

Aus dem Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin
Geschf. Dir.: Prof. Dr. med. Ewald Wüstenfeld

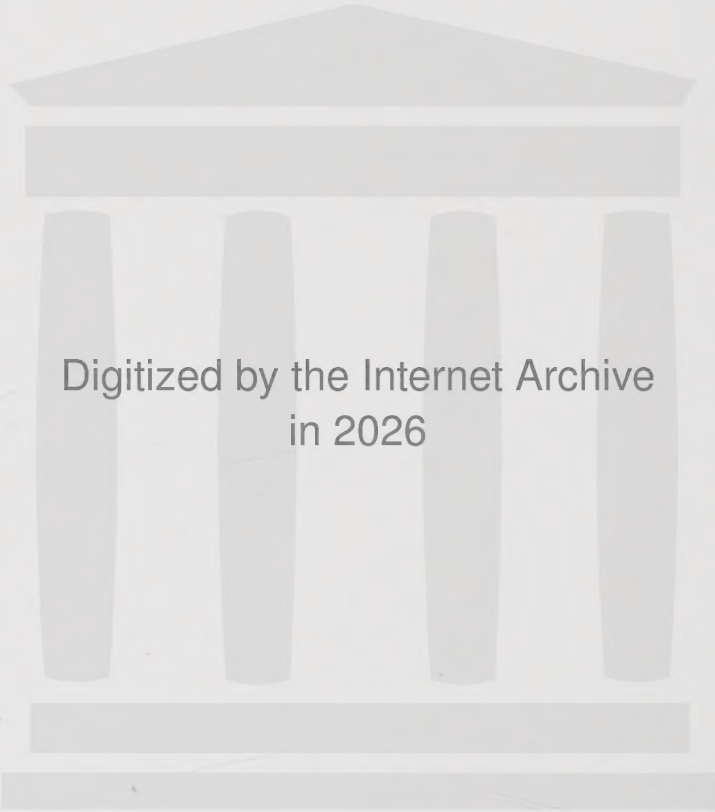
**Morphologische Veränderungen nach adäquater Reizung:
Licht- und elektronenmikroskopische Studien
an Nervenzellen der Nuclei cochleares weißer Ratten**

**Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin**

vorgelegt von
Petra Köpf-Maier
aus Hof/Bayern

Berlin 1977

1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548401_0011

Aus dem Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin
Geschf. Dir.: Prof. Dr. med. Ewald Wüstenfeld

Morphologische Veränderungen nach adäquater Reizung:
Licht- und elektronenmikroskopische Studien
an Nervenzellen der Nuclei cochleares weißer Ratten

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Petra Köpf-Maier
aus Hof/Bayern

Berlin 1977

Referent: Professor Dr. med. Ewald WÜSTENFELD

Korreferent: Professor Dr. med. Jorge CERVOS-NAVARRO



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 24. April 1978

Meinem verehrten Lehrer

Herrn Professor Dr. Ewald WÜSTENFELD

gilt mein ganz besonderer Dank. Durch sein freundliches Interesse, seine wertvollen Anregungen und die mir großzügig gewährte Unterstützung ermöglichte und förderte er das Zustandekommen dieser Arbeit.

Herrn Professor Dr. Diedrich GRAF VON KEYSERLINGK

danke ich herzlich für anregende und klärende Diskussionen über spezielle elektronenmikroskopische Probleme.

INHALTSVERZEICHNIS

Kapitel		Seite
1.	AUFGABENSTELLUNG	7
2.	THEORETISCHE GRUNDLAGEN	8
2.1.	Bisheriger Kenntnisstand	8
2.2.	Beschreibung des Nucleus cochlearis	13
3.	MATERIAL UND METHODE	17
3.1.	Lichtmikroskopischer Teil	17
3.1.1.	Beschallung	17
3.1.2.	Präparation und histologische Aufarbeitung	17
3.1.3.	Karyometrische Auswertung	18
3.1.4.	Statistische Auswertung	19
3.1.4.1.	Häufigkeitsverteilungsanalyse	19
3.1.4.2.	Signifikanzprüfung	20
3.2.	Elektronenmikroskopischer Teil	22
3.2.1.	Beschallung	22
3.2.2.	Präparation	22
3.2.3.	Morphometrische Auswertung	23
3.2.3.1.	Cisternen des rauhen endoplasmatischen Reticulum	24
3.2.3.2.	Ribosomen	25
3.2.3.3.	Präsynaptische Endigungen	26
3.2.4.	Statistische Auswertung	27

Kapitel	Seite
4. BEFUNDE	29
4.1. Lichtmikroskopische Befunde	29
4.1.1. Beschallungseinfluß auf die Kernvoluminamittelwerte von Ganglienzellen	29
4.1.1.1. Vergleich zwischen rechten und linken Nuclei cochleares	29
4.1.1.2. Vergleich zwischen caudaler, mittlerer und cranialer Schnitthöhe	33
4.1.1.3. Vergleich zwischen dorsomedial, intermedial und ventrolateral gelegenem Kerngebiet	41
4.1.2. Beschallungseinfluß auf die Häufigkeitsverteilungskurven der Kernvolumina	48
4.1.2.1. Unbeschallte Ratte	49
4.1.2.2. 0,5 h beschallte Ratte	51
4.1.2.3. 1 h beschallte Ratte	53
4.1.2.4. 2 h beschallte Ratte	53
4.1.2.5. 4 h beschallte Ratte	56
4.1.2.6. 8 h beschallte Ratte	58
4.1.2.7. 24 h beschallte Ratte	60
4.2. Elektronenmikroskopische Befunde	65
4.2.1. Beschallungsbedingte Veränderungen am Nervenzellkern	65
4.2.2. Beschallungsbedingte Veränderungen an den Strukturen des Nervenzellcytoplasma	69
4.2.2.1. GOLGI-Apparat	69
4.2.2.2. Cisternen des rauen endoplasmatischen Reticulum	70
4.2.2.3. Ribosomen	72
4.2.2.4. Mitochondrien	75
4.2.3. Beschallungsbedingte Veränderungen an den Strukturen der präsynaptischen Endigungen	81

Kapitel		Seite
5.	DISKUSSION	94
5.1.	Diskussion der lichtmikroskopischen Befunde	94
5.1.1.	Diskussion der Mittelwertveränderungen neuronaler Kernvolumina	94
5.1.2.	Diskussion der Veränderungen in der neuronalen Kernklassenverteilung	101
5.2.	Diskussion der elektronenmikroskopischen Befunde	110
5.2.1.	Diskussion der ultrastrukturellen Befunde am Nervenzellkern	110
5.2.2.	Diskussion der ultrastrukturellen Befunde im Nervenzellcytoplasma	115
5.2.3.	Diskussion der ultrastrukturellen Befunde an den präsynaptischen Endigungen	129
6.	ZUSAMMENFASSUNG	139
6.1.	Zusammenfassung der lichtmikroskopischen Ergebnisse	139
6.2.	Zusammenfassung der elektronenmikroskopischen Ergebnisse	142
7.	LITERATURVERZEICHNIS	146

1. AUFGABENSTELLUNG

Kernvolumenvergrößerungen nach Beschallung wurden in den letzten Jahren an Ganglienzellen verschiedener Hörbahnstationen bei Meer-schweinchen festgestellt.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, diese Befunde an Nervenzel-len der Nuclei cochleares von Albinoratten zu bestätigen und mit statistischen Methoden zu prüfen, ob den karyometrisch ermittelten Ergebnissen eine mathematische Gesetzmäßigkeit zugrunde zu legen ist. Dabei galt es, Hinweise auf die Art des Kernwachstums nach funktio-neller Belastung der zugehörigen Ganglienzellen zu erhalten.

Zur weiteren Aufklärung der intrazellulären Vorgänge nach Schall-reizung sollten die ultrastrukturellen Nervenzellveränderungen elektronenmikroskopisch untersucht werden. Hierbei stand die Frage im Vordergrund, wie neuronale Stoffwechsel- und Transmissionsvor-gänge durch adäquate Stimulation beeinflusst werden.

2. THEORETISCHE GRUNDLAGEN

2.1. Bisheriger Kenntnisstand

Die ersten variationsstatistischen Untersuchungen an Kernpopulationen unbeeinflusster Zellen wurden 1925 und 1931 von JACOBJ^{51,52} vorgenommen. Sie führten zu der Erkenntnis, daß sich die Gipfelpunkte der Häufigkeitsverteilungskurven wie $1 : 2 : 4 : 8 \dots$ verhalten. Die Entstehung dieser "Verdopplungsklassen" erklärte JACOBJ durch einen rhythmischen Wachstumsprozeß der Zellkerne. Einige Jahre später berichtete HERTWIG^{45,46} (1938/39, 1942) über das zusätzliche Vorkommen von "Zwischenklassen" bei ungereizten Nuclei und fügte sie entsprechend der Zahlenfolge $1 : 1\sqrt{2} : 2 : 2\sqrt{2} : 4 : 4\sqrt{2} \dots$ in die JACOBJSche Wachstumsreihe ein.

Während JACOBJ^{51,52} und HERTWIG^{45,46} ihre Untersuchungen ausschließlich an "ruhenden", experimentell nicht stimulierten Organen durchführten, wurden Anfang der fünfziger Jahre Arbeiten über die Abhängigkeit der Nucleusgröße von Reizungsfaktoren in Angriff genommen. Dabei wandte sich KRANTZ⁵⁵ (1951) bevorzugt dem Einfluß inadäquater Reize auf die durchschnittliche Kerngröße sowie die zugehörigen Häufigkeitsverteilungskurven zu, wohingegen BENNINGHOFF⁹ (1950) die Wirkung adäquater Zellirritation auf die Nucleusgröße aufzuklären suchte. Er beobachtete eine stimulationsbedingte Vergrößerung des arithmetischen Kernvolumenmittelwertes und beschrieb dieses Phänomen als "funktionelles Kernödem". Im Gegensatz zu KRANTZ⁵⁵ führte BENNINGHOFF⁹ jedoch keine Häufigkeitsverteilungsanalyse der im Durchschnitt vergrößerten Kernvolumina durch.

Die von BENNINGHOFF⁹ festgestellte Mittelwerterhöhung der Kernvolumina nach adäquater Reizung wurde in den folgenden Jahren durch weitere Untersuchungen bestätigt. So verursacht Kochsalzbelastung von Ratten Volumenzunahmen der Zellkörper, der Zellkerne und der

Nucleolen an den Nervenzellen der Nuclei supraopticus et paraventricularis (EDSTRÖM und EICHNER^{25,26}, 1958 bzw. 1960), Reintonbeschallung von Meerschweinchen Zellkernvergrößerungen im Bereich des CORTIschen Organs und des aufsteigenden Hörbahnsystems (NEUBERT, WÜSTENFELD und Mitarbeiter^{43,73,110-118}).

Im einzelnen konnte gezeigt werden, daß die Nuclei der äußeren Haarzellen des CORTIschen Organs in Abhängigkeit von Frequenz, Intensität und Dauer der einwirkenden Töne anschwellen, wobei die tonspezifischen Ansprechareale, die morphologisch durch maximale Kernvolumenzunahmen der äußeren Haarzellen gekennzeichnet sind, mit den frequenzabhängigen Gebieten größter Basilarmembranauslenkung weitgehend übereinstimmen (NEUBERT und WÜSTENFELD⁷³, 1955; WÜSTENFELD¹¹⁰, 1958). 1961 gelang es HARTZENDORF et al.⁴³ (1961), auch an den inneren Haarzellen Schwellkerne mit Hilfe von diskontinuierlicher Beschallung hervorzurufen. Erstaunlicherweise ließ das Verteilungsmuster der geschwellenen inneren Haarzellen keinen direkten Zusammenhang mit der frequenzabhängigen Schwingungsform der Basilarmembran erkennen. Dagegen beobachteten WÜSTENFELD und HALBFAS¹¹⁵ (1965) im Ganglion spirale cochleae - ähnlich wie an den äußeren Haarzellen - reizungsbedingte Zellkernvergrößerungen, deren räumliche Anordnung auf eine tonotope Gliederung des Kerngebiets hinwies. In Weiterverfolgung der afferenten Hörbahnen wurden schließlich die morphometrisch erfaßbaren Zellkernreaktionen nach adäquater Neuronreizung im medullären Akustikuskomplex (WÜSTENFELD und GLEISS¹¹⁴, 1969; WÜSTENFELD et al.¹¹⁶, 1970; WÜSTENFELD und FINCK¹¹², 1973), in der Oliva superior (WÜSTENFELD und BÜMMERSTEDE¹¹¹, 1973) sowie im Colliculus inferior (WÜSTENFELD und GALL¹¹³, 1970; WÜSTENFELD und SCHWAB¹¹⁷, 1970) untersucht. Dabei fanden die Autoren in allen Gebieten zwar eine Abhängigkeit des Ausmaßes der Kernschwellung von Frequenz, Intensität und Dauer der jeweiligen Reiztöne, tonspezifische Ansprechareale innerhalb der Kerngebiete konnten jedoch in keinem Fall nachgewiesen werden.

Etwa zur gleichen Zeit führte STÖCKER^{100, 101} (1962) autoradiographische Experimente an physiologisch gereizten Zellen des exokrinen Pankreas durch, um den metabolischen Vorgängen im Zellkern näherzukommen, die während der funktionellen Kernschwellung ablaufen. Dabei beobachtete er an den stimulierten Zellen eine Erhöhung des intranuclearen Proteingehalts, die proportional zur Kernvolumensteigerung verläuft, sowie eine Vergrößerung der RNS-Synthese, die stärker als linear mit dem Kernvolumen zunimmt. Diese überschießende biologische Regulation scheint notwendig zu sein, um dem besonders zu Reizungsbeginn stark erhöhten cytoplasmatischen Bedarf an RNS-Molekülen nachzukommen.

Durch die Darstellung der Ultrastruktur des Nervengewebes Anfang der fünfziger Jahre (PALAY und PALADE⁷⁶, 1955; LUSE⁶⁶, 1956) wurde das Fundament für elektronenmikroskopische Untersuchungen an stimulierten Ganglienzellen gelegt, wobei die Neurone fast ausschließlich elektrisch - zum Teil "supramaximal" - gereizt wurden.

Im Vordergrund standen Arbeiten über stimulationsbedingte Veränderungen an synaptischen Vesikeln, wobei die Autoren keineswegs zu übereinstimmenden Ergebnissen gelangten. DE ROBERTIS und VAZ FERREIRA²¹ (1957) sowie FEHÉR et al.³⁴ (1972) berichteten beispielsweise über eine Zunahme der Vesikeldichte nach niedrigfrequenter und eine Abnahme nach höherfrequenter Irritation. Andere Untersucher stellten nur in Anwesenheit eines Stoffwechselhemmers (ATWOOD et al.⁷, 1972) bzw. bei Cholinmangel (PÁRDU CZ und FEHÉR⁷⁹, 1970; PÁRDU CZ et al.⁸⁰, 1971) eine Vesikelverminderung fest, wohingegen sowohl PERRI et al.⁸³ (1972) als auch QUILLIAM und TAMARIND⁹¹ (1973) allein durch elektrische Stimulation einen Vesikelschwund in der gesamten Endigung hervorrufen konnten, der mit steigender Entfernung von der präsynaptischen Membran stärker ausgeprägt war. Neben einer erheblichen Vesikelverringerung nach elektrischer Stimulation beobachteten PYSH und WILEY⁹⁰ (1974) sowie HEUSER und

REESE⁴⁷ (1973) eine Oberflächenzunahme der synaptischen Membran und Krümmung der synaptischen Kontaktfläche als Ergebnis einer exocytotischen Ausschleusung der in den Vesikeln enthaltenen Transmittersubstanzen. Aufgrund weiterer experimenteller Befunde stellten HEUSER und REESE⁴⁷ eine Zirkulationshypothese für die Vesikelmembran auf.

Im Gegensatz zu den präsynaptischen Veränderungen wurden stimulationsbedingte Reaktionen des Cytoplasma nur selten elektronenmikroskopisch untersucht. BOCHAROVA et al.¹⁵ (1972) beispielsweise fanden durch qualitative Beobachtung eine Stunde nach Beendigung elektrischer Neuronreizung eine Vermehrung der cytoplasmatischen Mitochondrien, der Cisternen des rauen endoplasmatischen Retikulum sowie aller ribosomalen Funktionsformen.

Dagegen versuchten viele Autoren, mit autoradiographischen Methoden die reizungsinduzierten Vorgänge im RNS- und Proteinstoffwechsel aufzuklären. So beobachteten sowohl BERRY¹⁰ (1969) als auch PETERSON und KERNELL⁸⁵ (1970) während elektrischer Nervenzellirritation, BOCHAROVA et al.¹⁵ (1972) sowie GISIGER und GAIDE-HUGUENIN³⁸ (1969) erst nach Reizungsende einen erhöhten Einbau Tritium-markierter Pyrimidinbasen in RNS-Moleküle als Ausdruck einer gesteigerten RNS-Synthese. Sowohl ORREGO⁷⁵ (1967) als auch PRIVES und QUASTEL⁸⁸ (1969) beschrieben allerdings - ebenfalls unter elektrischen Stimulationsbedingungen - eine erhebliche Verminderung der ¹⁴C-Uridin-Inkorporation in RNS-Moleküle. Zur Deutung dieser widersprüchlichen Ergebnisse nahmen PETERSON und KERNELL⁸⁵ eine Abhängigkeit des beobachteten Effekts von der Stimulationsintensität an: Zu geringfügige Reizung (z.B. EDSTRÖM und GRAMPP²⁷, 1965) ruft keine synaptische Aktivierung und daher auch keine Veränderung des RNS-Gehalts in den Nervenzellen hervor; überschwellige Stimulation geringen Ausmaßes führt jedoch infolge vermehrter RNS-Synthese zur Erhöhung des RNS-Gehalts; übermäßig intensive und übermäßig lange Reizung

("overexcitation") hingegen verursacht einen Abfall der RNS-Menge in den Neuronen. SHASHOUA⁹⁷ (1974) klärte das Zustandekommen dieser RNS-Verminderung auf, indem er RNS-Synthese und RNS-Gehalt als getrennte Phänomene betrachtete. In jedem überschwellig gereizten Neuron vermutet er eine RNS-Synthese-Aktivierung als Folge des vergrößerten RNS-Bedarfs der Zelle. Da jedoch bei erschöpfender Reizung der RNS-Verbrauch so erheblich ist, daß die vermehrt ablaufenden synthetischen Vorgänge in der Zelle den RNS-Verbrauch nicht auszugleichen vermögen, resultiert während der Stimulation ein Abfall des RNS-Gehalts, obwohl die Syntheserate erhöht ist.

Einheitlicher sind die Untersuchungsergebnisse über reizungsinduzierte Veränderungen des Eiweißstoffwechsels. Hier fanden alle Autoren einen vermehrten Einbau radioaktiv markierter Aminosäuren in Proteinmoleküle als Ausdruck einer gesteigerten Eiweißsynthese (vgl. APPEL et al.⁶, 1967; LUX et al.⁶⁷, 1970).

2.2. Beschreibung des Nucleus cochlearis

Der Nucleus cochlearis stellt die erste Umschaltstation im Laufe der Hörbahn für die aus dem Innenohr stammenden afferenten Fasern dar, deren zugehörige Nervenzellen im Ganglion spirale cochleae lokalisiert sind. Die peripheren Neuriten dieser bipolaren Ganglienzellen umspinnen die inneren und äußeren Haarzellen des CORTI-schen Organs und leiten nach synaptischer Transmission die Erregungsvorgänge aus den sekundären Sinneszellen des CORTI-schen Organs auf die zentralen Fortsätze der bipolaren Nervenzellen weiter. Diese verlaufen als akustischer Anteil des Nervus vestibulocochlearis vom Innenohr zum Kleinhirnbrückenwinkel, treten dort in das craniale Ende der Medulla oblongata ein und verzweigen sich sogleich, um im Nucleus cochlearis ventralis et dorsalis zu endigen. Nach der Umschaltung verlassen die Fasern 2. Ordnung den Nucleus cochlearis als Striae acusticae dorsales, intermediales und ventrales in medialer Richtung. Wenige der in den Kern eingetretenen Fasern werden allerdings nicht durch Synapsen unterbrochen, sondern ziehen als Fasern 1. Ordnung aus dem Kerngebiet heraus, um erst in höheren Zentren ipsi- oder kontralateral umgeschaltet zu werden.

Jede Faser, die vom Innenohr kommt und im Nucleus cochlearis endigt, ist beim Menschen nach dem Prinzip der Divergenzschaltung mit 75 bis 100 Nervenzellen verbunden (ADES¹, 1959). Da jedoch der Akustikuskern nur 2,9-mal mehr Nervenzellen besitzt als das Ganglion spirale cochleae (CHOW¹⁷, 1951), enden folglich viele ankommende Fasern an jeder Ganglienzelle (Konvergenzschaltung).

Die Abbildungen 1 bis 3 zeigen die Lage des Nucleus cochlearis im Hirnstamm der Ratte. In seinem caudalen Bereich zieht er vom lateralen Rand des IV. Ventrikels an der Medullaoberfläche über den unteren Kleinhirnstiel hinweg nach ventrolateral. Am Übergang vom un-

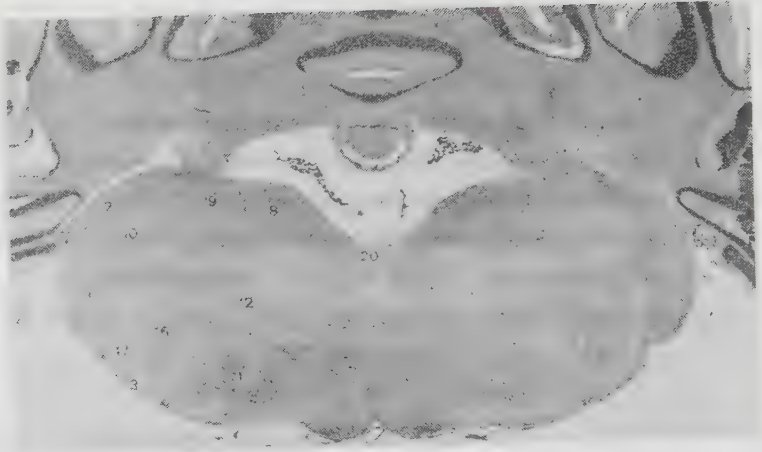


Abbildung 1: Querschnitt durch das craniale Myelencephalon der Ratte (caudaler Bereich der Nuclei cochleares).

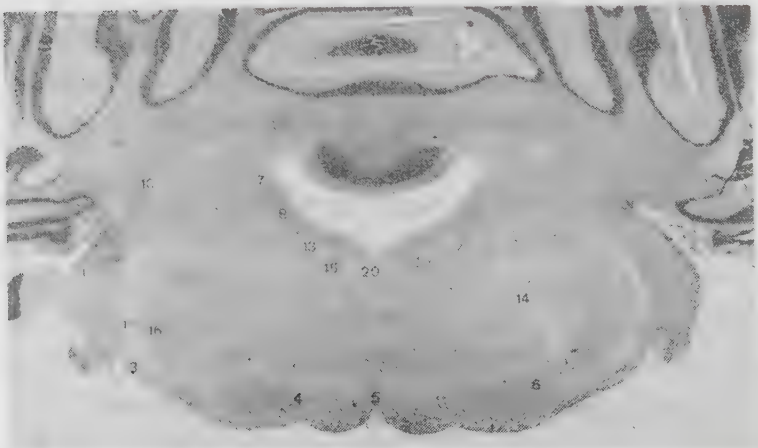


Abbildung 2: Querschnitt durch das caudale Metencephalon der Ratte (mittlerer Bereich der Nuclei cochleares).

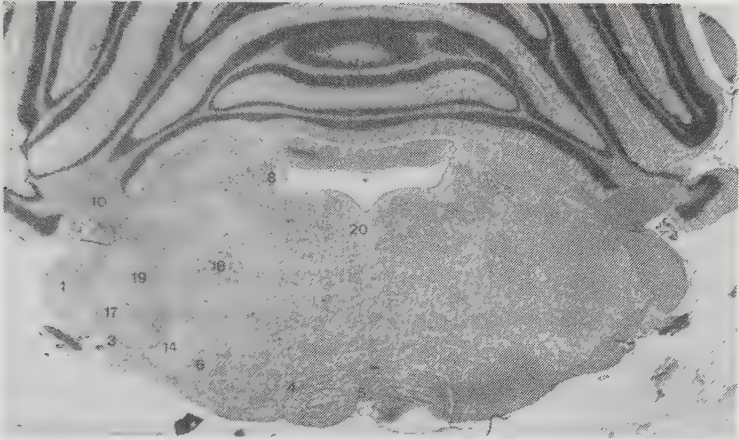


Abbildung 3: Querschnitt durch das craniale Metencephalon der Ratte (cranialer Bereich der Nuclei cochleares).

Zu den Abbildungen 1 bis 3

- 1 Nucleus cochlearis ventralis
- 2 Nucleus cochlearis dorsalis
- 3 Corpus trapezoideum
- 4 Nucleus corporis trapezoidei
- 5 Decussatio corporis trapezoidei
- 6 Nucleus olivaris superior
- 7 Nucleus vestibularis superior
- 8 Nucleus vestibularis medialis
- 9 Nucleus vestibularis lateralis
- 10 Pedunculus cerebellaris inferior
- 11 Nucleus nervi facialis
- 12 Radix nervi facialis
- 13 Radix nervi facialis (genu)
- 14 Nervus facialis (radix motoria)
- 15 Nucleus nervi abducentis
- 16 Nucleus tractus spinalis nervi trigemini
- 17 Radix tractus spinalis nervi trigemini
- 18 Nucleus nervi trigemini (motorius)
- 19 Nucleus nervi trigemini (sensorius)
- 20 Fasciculus longitudinalis medialis
- 21 Tractus corticospinalis

teren zum mittleren Drittel des Nucleus cochlearis (vgl. Abbildung 1) treten die ersten Fasern des Pedunculus cerebellaris inferior in das Kleinhirn über. Der in cranialer Richtung größer werdende untere Kleinhirnstiel drängt den Akustikuskern immer weiter nach lateral (Abbildungen 2 und 3). Gleichzeitig nimmt der Nucleus cochlearis dorsalis an Größe erheblich ab, so daß der Nucleus cochlearis im cranialen Bereich nur noch aus seinem ventralen Anteil besteht.

Die beiden Teilgebiete des Nucleus cochlearis der Ratte lassen sich lichtmikroskopisch gut gegeneinander abgrenzen aufgrund ihrer unterschiedlichen Zelltypen sowie ihrer differentiellen Zell- und Faseranordnung (TREUX und CARPENTER¹⁰³, 1969). Bei Färbung mit der GOLGI-Methode (KRIEG⁵⁶, 1947) treten im Nucleus cochlearis kelchähnliche Endigungen ("Calyces") hervor, die erstmals 1893 von HELD⁴⁴ beschrieben wurden. Sie bestehen aus einer kolbenförmigen Auftreibung und einem Büschel von Fortsätzen, die bevorzugt mit Nervenzellsomata synaptische Kontakte eingehen.

Aus Versuchen mit Mikroelektroden von ROSE et al.⁹⁵ (1959) geht hervor, daß das gesamte Frequenzspektrum der Lamina basilaris des Innenohrs sowohl im Nucleus cochlearis dorsalis als auch im anterioren und im posterioren Teil des Nucleus cochlearis ventralis tonotop abgebildet ist. In allen drei Untereinheiten enden die niedrigen Frequenzen Übertragenden Fasern aus der Cochleaspitze im jeweils ventrolateralen Gebiet, die hohen Frequenzen vermittelnden Fasern aus den basalen Schneckenanteilen hingegen im jeweils dorsomedialen Bereich.

3. MATERIAL UND METHODE

3.1. Lichtmikroskopischer Teil

3.1.1. Beschallung

Unsere Experimente führten wir an acht bis zehn Wochen alten weiblichen Albinoratten mit einem Gewicht von 240 bis 260 g durch. Da Ratten der verwendeten Spezies mit einem halben Jahr etwa 600 bis 700 g schwer werden können, sind unsere Versuchstiere noch keineswegs als ausgewachsen anzusehen. Die Beschallung erfolgte mit Hilfe einer elektrischen Klingel der Schallstärke 98 dB bei einem Frequenzspektrum von 100 bis 20 000 Hz. Dabei wurde jeweils ein Tier durchgehend 0,5 h, 1 h, 2 h, 4 h, 8 h und 24 h lang den experimentellen Bedingungen unterworfen. Ein Tier wurde dem Reiz nicht ausgesetzt, um als Kontrolle dienen zu können. Da sich in einer früheren Arbeit (WÜSTENFELD und GLEISS¹¹⁴, 1969) kaum Differenzen (< 2 %) zwischen den karyometrisch bestimmten Kernvolumenmittelwerten der beiderseitigen Akustikuskomplexe gleichartig behandelter Tiere ergaben, verzichteten wir infolge der offensichtlichen Reproduzierbarkeit der lichtmikroskopisch ermittelten Ergebnisse auf Kontrolltiere zu jedem Versuch.

3.1.2. Präparation und histologische Aufarbeitung

Unmittelbar nach Beschallungsende wurden die Ratten unnarkotisiert dekapiert, um die von KRANTZ⁵⁴ (1947) nachgewiesene Narkotikawirkung auf die Kerngröße von Epithel- und Nervenzellen zu vermeiden. Daraufhin wurde der Hirnstamm unter ständigem Beträufeln mit 4 %igem Formalin herauspräpariert, für mindestens 24 h in 4 %iges Formalin eingelegt und nach Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe

in Paraffin eingebettet. Abschließend wurde er senkrecht zu seiner Längsachse etwa 10 μ m dick geschnitten, die erhaltenen Präparate mittels Hämatoxylin nach MAYER und wasserlöslichem Eosin gefärbt.

3.1.3. Karyometrische Auswertung

Nach mikroskopischer Lokalisation der Nuclei cochleares wurde der rechte bzw. linke Akustikuskomplex jedes Tieres - bestehend aus Nucleus cochlearis ventralis et dorsalis (vgl. Kapitel 2.2.) - in neun Teilgebiete untergliedert: Längs der etwa 2,1 bis 2,4 mm betragenden caudocranialen Ausdehnung des Kerngebiets legten wir drei Bereiche als caudale, mittlere und craniale Schnitthöhe fest, in denen die karyometrische Auswertung der Ganglienzellen vorgenommen wurde. In jedem einzelnen Präparat aus diesen Schnitthöhen wurde der Akustikuskomplex darüberhinaus in ein dorsomedial, intermedial und ventrolateral gelegenes Areal unterteilt, wobei das dorsomediale und intermediale Gebiet etwa dem Nucleus cochlearis dorsalis, der ventrolaterale Bereich dagegen dem Nucleus cochlearis ventralis entsprachen. In dem jeweils dorsomedial, intermedial bzw. ventrolateral gelegenen Areal einer Schnitthöhe auf der rechten bzw. linken Seite eines Tieres wurden 83 bis 84 Zellkerne vermessen, so daß sich pro Schnitthöhe einer Körperseite 250, pro Körperseite 750 und pro Tier 1500 Einzelwerte ergeben.

Die Kernmessung selbst führten wir mit Hilfe des WILD-Mikroskops M 20 bei 600-facher Vergrößerung und des elektronisch daran angeschlossenen Mikrolängenmeßgeräts (WILD/Tesa) durch. Zur Auswertung gelangten lediglich streng sphärische Ganglienzellkerne mit allseits gleichmäßig scharfen Konturen und sichtbarem Nucleolus. Dadurch sollte gewährleistet sein, daß jeder Kern - auch bei Auswertung benachbarter Schnitte - nur einmal, und zwar im Bereich des Kernzen-

trums erfaßt wurde (HILLER⁴⁸, 1965; PALKOVITS und FISCHER⁷⁸, 1968). Gleichzeitig sollte die Vermessung von Kernkalotten vermieden werden, um die Ergebnisse nicht zu verfälschen. Aus dem Durchmesser d der Zellkerne, der auf der Skala des Längenmeßgerätes abgelesen werden konnte, berechneten wir - Kugelform der Nervenzellkerne voraussetzend - die zugehörigen Volumina V nach der Formel

$$V = \frac{4}{3} \pi \left(\frac{d}{2}\right)^3.$$

3.1.4. Statistische Auswertung

3.1.4.1. Häufigkeitsverteilungsanalyse

Anschließend wurden alle Volumeneinzelwerte, die wir auf der rechten bzw. linken Körperseite jedes Versuchstiers erhielten, in einem Diagramm gegen die Häufigkeit aufgetragen. Dadurch entstanden Verteilungskurven, die denen von JACOB⁵¹ (1925), HERTWIG⁴⁵ (1938/39) und KRANTZ⁵⁵ (1951) ähnelten. Zur Ermittlung der die Gesamtkollektive zusammensetzenden Kernklassen zogen die genannten Autoren die relativen Maxima der Verteilungskurven heran. Da das Zustandekommen der Gipfelpunkte einer Verteilungskurve jedoch statistisch gesehen von sehr vielen Faktoren abhängt, sind sie nicht geeignet, als objektives Merkmal von Kernklassen zu dienen, die statistisch definierte Zellpopulationen darstellen sollten. Aus diesem Grund erschien es notwendig, eine exaktere, analytisch verfeinerte Methodik - wie die Zerlegung der gesamten Kernvolumenpopulation in Teilkollektive - heranzuziehen.

Zu diesem Zweck eichten wir zunächst die einzelnen Kanäle eines "curve resolver" der Firma E. I. DU PONT DE NEMOURS und Co. (Inc.) auf GAUSSsche Normalverteilungskurven und bildeten die vorgelegte Kurve durch Zusammenschaltung der einzelnen Kanäle möglichst genau

nach. Die simulierte Kurve sowie die sie zusammensetzenden Teilkollektive, deren graphische Summation zwangsläufig wieder die ursprüngliche Verteilungskurve als Umhüllende der Einzelkollektive ergeben muß, wurden mit Hilfe des an das Gerät angeschlossenen "curve plotter" aufgezeichnet. Außerdem konnte für jede Untereinheit der prozentuale Flächenanteil an der Gesamtfläche der Verteilungskurven abgelesen werden. Auf diese Weise erhielten wir als Komponenten der Kernvolumenpopulationen normalverteilte Einzelkollektive, die biologisch einheitliche Populationen darstellen und deren Mittelwert als Charakteristikum einer Kernklasse herangezogen werden konnte. Darüberhinaus gestottete der prozentuale Flächenwert der einzelnen Teilkollektive, die relative Häufigkeit und damit die Auftrittswahrscheinlichkeit der einzelnen Kernklassen abzuschätzen.

3.1.4.2. Signifikanzprüfung

Außer der Häufigkeitsverteilungsanalyse führten wir eine Signifikanzprüfung der Differenzen zwischen den einzelnen Stichprobenmittelwerten mit Hilfe des STUDENT-Testes durch. Zu diesem Zweck wurden vor Versuchsbeginn zunächst die Nullhypothese ("Die beiden jeweils zu prüfenden Stichproben gehören derselben Grundgesamtheit an. Die beobachteten Differenzen zwischen den Stichprobenmittelwerten sind rein zufällig bedingt.") und die Alternativhypothese ("Die beiden zu untersuchenden Stichproben entstammen Grundgesamtheiten mit verschiedenen Mittelwerten und Varianzen.") formuliert sowie die Irrtumswahrscheinlichkeit mit $\alpha = 0,05$ festgelegt. Nach der karvometrischen Ermittlung der Kerngrößen errechneten wir die arithmetischen Mittelwerte M der zu prüfenden Variablen und die zugehörigen Standardabweichungen s in den jeweiligen Stichproben und prüften die Differenzen der Stichprobenmittelwerte mit Hilfe des STUDENT-

Testes unter der Voraussetzung, daß die Stichproben Grundgesamtheiten mit derselben Streuung und normal verteilten Zufallsvariablen entnommen sind. Da wir vor Versuchsbeginn nicht absehen konnten, ob sich die zu prüfenden Parameter unter experimentellen Bedingungen vergrößern oder verkleinern würden, mußten wir den t-Test zweiseitig durchführen.

Gemäß obiger Definition sprechen wir bei der Auswertung der karyometrischen Ergebnisse von signifikanten Unterschieden zwischen zwei Stichprobenmittelwerten, wenn die Wahrscheinlichkeit $\alpha = 2 P$ für einen Fehler erster Art nach Ablehnung der Nullhypothese kleiner als $0,05 = 5 \%$, von hochsignifikanten Differenzen, wenn $\alpha = 2 P$ kleiner als $0,001 = 0,1 \%$ ist.

3.2. Elektronenmikroskopischer Teil

3.2.1. Beschallung

Als Versuchstiere dienten uns 8 bis 10 Wochen alte, 240 bis 260 g schwere weibliche Albinoratten (vgl. Kapitel 3.1.). Jeweils ein Tier wurde 40 min, 1 h, 2 h, 7,5 h und 24 h beschallt, insgesamt drei Tiere blieben unbehandelt und stellten die Gruppe der Vergleichstiere dar. Die Beschallung erfolgte durch eine Klingel mit der Schallstärke 98 dB bei einem Frequenzbereich von 100 bis 20 000 Hz (vgl. Kapitel 3.1.). Im Gegensatz zu den karyometrischen Untersuchungen beschränkten wir uns bei der elektronenmikroskopischen Versuchsauswertung auf die Analyse der reizungsbedingten Veränderungen im Nucleus cochlearis ventralis. Nach Ermittlung der Ergebnisse jedes einzelnen Tieres faßten wir die Resultate der 40 min, 1 h und 2 h sowie der 7,5 h und 24 h beschallten Tiere unter dem Gesichtspunkt der Kurzzeit- und Langzeitbeschallung nochmals statistisch zusammen und erhielten auf diese Weise drei große Versuchsgruppen: die der unbehandelten, der kurzdauernd (40 min, 1 h, 2 h) sowie der langfristig (7,5 h, 24 h) stimulierten Ratten. Als vorteilhaft erwies sich dabei vor allem die größere Übersichtlichkeit der Ergebnisse und das Vorhandensein von Kontrolltieren innerhalb jeder Versuchsgruppe.

3.2.2. Präparation

Etwa fünf Minuten nach Beschallungsende wurden die Tiere narkotisiert und mittels einer durch die Herzspitze und den linken Ventrikel in die Aorta ascendens eingeführten Kanüle etwa 30 min lang mit 2,5%-igem Glutaraldehyd perfundiert. Um eine Abflußmöglichkeit für das aus den Gefäßen verdrängte Blut und den Glutaraldehyd zu

schaffen, wurde das rechte Herzohr aufgeschnitten. Um eine gute Durchströmung des Gehirns mit Glutaraldehyd über die Arteria carotis und die Arteria vertebralis zu erreichen, klemmten wir vor Perfusionsbeginn die Aorta thoracica ab. Zwei unbeschaltete Ratten sowie die beiden langzeitgereizten Tiere wurden über die eröffnete Trachea bis zum eingetretenen Exitus künstlich beatmet. Nach Perfusionsende wurde der Hirnstamm freipräpariert, herausgeschnitten und 18 h in 2,5%-igen Glutaraldehyd eingelegt. Der daraufhin exzidierte Nucleus cochlearis ventralis wurde in 0,1 M Natrium-Cacodylat-Puffer gewaschen, in 1%-iger Osmiumsäure nachfixiert und erneut in 0,9%-iger Kochsalzlösung gewaschen. Nach der Entwässerung der Gewebstückchen in der aufsteigenden Acetonreihe erfolgte innerhalb mehrerer Tage die stufenweise Einbettung in Mikropal. Die mit dem REICHERT-Mikrotom ultradünn geschnittenen Präparate wurden anschließend mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert, im SIEMENS Elmiskop I bei 4 000 - bis 30 000 - facher Vergrößerung betrachtet, photographiert und je nach Bedarf 2- bis 7- fach nachvergrößert. Detailklarheit und Membrankontinuität in den Ganglien- und Gliazellen werten wir als Beweis guter Strukturerhaltung und ausreichender Fixierung.

3.2.3. Morphometrische Auswertung

Neben der qualitativen Beurteilung der Nervenzellkörper, -dendriten und -axone erfaßten wir die beschallungsbedingten Veränderungen an den Strukturen des rauen endoplasmatischen Retikulum (ER) und der synaptischen Endigungen mit Hilfe folgender morphometrischer Methoden:

3.2.3.1. Cisternen des rauhen endoplasmatischen Retikulum

Zur quantitativen Erfassung der Veränderungen an den cisternalen und tubulären Bestandteilen des rauhen endoplasmatischen Retikulum (ER) erschien uns die von LOUD⁶⁴ (1962), WEIBEL et al.¹⁰⁶ (1966) und ELIAS et al.²⁸ (1971) angegebene Liniemeßmethode geeignet. Sie basiert auf der 1847 formulierten Aussage von DELESSE²⁰, daß sich die Volumina zweier Gewebskomponenten wie ihre Flächen in einem beliebig gelegten Gewebeschnitt von zu vernachlässigender Dicke verhalten ($V_1 : V_2 = A_1 : A_2$). Daraus ergibt sich die Möglichkeit, durch Ermittlung der Flächenverhältnisse zweier Strukturbestandteile in der Schnittebene eine Aussage über die Relation ihrer Volumina im dreidimensionalen Raum zu treffen. Projiziert man nun auf die Schnittfläche ein Strichgittermuster mit konstantem Linienabstand, so ist die Summe aller Liniensegmente, die eine Gewebskomponente überdecken, der Fläche dieses Gewebebestandteils in dem jeweiligen Schnitt direkt proportional ($L_1 \sim A_1$). Daher ist das Flächenverhältnis zweier Strukturkomponenten in einem zweidimensionalen Schnitt gleich dem Verhältnis der Summe der diese Bestandteile überlagernden Liniensegmente ($A_1 : A_2 = L_1 : L_2$). Da aus den beiden Gleichungen $V_1 : V_2 = A_1 : A_2$ und $A_1 : A_2 = L_1 : L_2$ die Beziehung $V_1 : V_2 = L_1 : L_2$ folgt, kann aus der Relation von Liniensegmentsummen auf das Verhältnis der zugehörigen Volumina im dreidimensionalen Raum geschlossen werden.

Auf dieser Basis läßt sich der prozentuale Flächenanteil der Cisternen am Gesamtcytoplasma (= relative Cisternenfläche) aus der Gleichung

$$RCA = \frac{L_{Cist}}{L_{Cyto}} \cdot 100 \%$$

errechnen, wobei RCA die relative Cisternenfläche und L_{Cist} bzw. L_{Cyto} die Summe der über den Cisternen des rauhen ER bzw. über dem

Gesamtcytoplasma liegenden Testliniensegmente bedeuten. Da die relative Cisternenfläche das Produkt aus Einzelcisternenfläche und Cisternenzahl pro Flächeneinheit mal 100 % darstellt, ermittelten wir zusätzlich zur relativen Cisternenfläche die beiden anderen genannten Größen, um abschätzen zu können, ob eventuelle Änderungen der relativen Cisternenfläche nach Beschallung vornehmlich durch Vergrößerung bzw. Verkleinerung der Flächen einzelner, bereits existenter Cisternen oder durch Vermehrung bzw. Verminderung der pro μm^2 vorhandenen Cisternenanzahl zustandekommen. Nach Errechnung der Gesamtcisternen- und Cytoplasmaabsolutfläche ergibt sich die Einzelcisternenfläche als Quotient aus der Cisternenabsolutfläche und der Cisternenzahl im Cytoplasma, die Cisternenzahl pro μm^2 durch Division der Cisternenanzahl im Cytoplasma durch die Cytoplasmaabsolutfläche.

In dieser Weise werteten wir pro Tier etwa zehn Cytoplasmata aus.

3.2.3.2. Ribosomen

In die morphometrische Auswertung der membrangebundenen Ribosomen des rauhen ER bezogen wir die der frei im Cytoplasma verteilten Mono- und Polysomen mit ein. Dabei gingen wir von der durch DAVID et al.¹⁹ (1970) und WENZEL et al.¹⁰⁸ (1975) angegebenen Methodik aus und bestimmten in den elektronenmikroskopischen Bildern die Gesamttribosomenzahl, die Anzahl der membrangebundenen Ribosomen sowie der frei im Cytoplasma verteilten Mono- und Polysomen pro cm^2 . Die Umrechnung auf die im Objekt pro μm^2 vorliegenden Ribosomenzahlen geschah mit Hilfe der Gleichung

$$N = N' \cdot M^2 \cdot 10^{-8},$$

wobei N die tatsächliche Ribosomenzahl pro μm^2 des Objekts, N' die Ribosomenhäufigkeit pro cm^2 in den elektronenmikroskopischen Bil-

dern und M die in diesen Abzügen vorliegende Gesamtvergrößerung darstellen.

Pro Tier erfaßten wir in ca. $25 \mu\text{m}^2$ die Ribosomenverteilung in der genannten Weise. Die Auswahl der auszuzählenden Cytoplasmagebiete erfolgte unter Verwendung von Zufallszahlen. Da auf diese Weise auch ribosomenarme und ribosomenfreie Areale zur Auswertung gelangten, ergaben sich besonders bei Berechnung der Absoluthäufigkeiten der verschiedenen ribosomalen Funktionsformen große Differenzen der Einzelwerte und demzufolge erhebliche Standardabweichungen. Aus diesem Grund bestimmten wir für die frei im Cytoplasma verteilten Mono- und Polysomen sowie die membrangebundenen Ribosomen nicht die Absolutzahl pro μm^2 , sondern ihren prozentualen Anteil an der Gesamtribosomenzahl pro Flächeneinheit.

Zusätzlich ermittelten wir bei allen erfaßten Polysomen die Anzahl der sie zusammensetzenden Ribosomen und erhielten pro Ratte etwa 800 Einzelwerte.

3.2.3.3. Präsynaptische Endigungen

Um die Vorgänge an den synaptischen Endigungen zu quantifizieren, errechneten wir mit derselben Methode wie bei der Cisternenauswertung die prozentualen Flächenanteile der Mitochondrien und synaptischen Vesikel an der Gesamtfläche der präsynaptischen Endigungen und bezeichneten sie als relative Mitochondrien- und relative Vesikelfläche. Darüberhinaus ermittelten wir - analog wie bei der Cisternenauswertung - die Vesikelanzahl pro Flächeneinheit. Basierend auf den Ausführungen von LENN und REESE⁶¹ (1966), die in den folgenden Jahren durch Untersuchungen von McDONALD und RASMUSSEN⁶⁸ (1969) sowie von NAKAJIMA⁷¹ (1971) bestätigt wurden, unterteilten wir die synaptischen Endigungen im Nucleus cochlearis ventralis in

Calyxfortsätze und Boutons terminaux. Elektronenmikroskopisch stellen sich die Fortsätze der erstmals 1893 von HELD⁴⁴ beschriebenen Calyces (vgl. Kapitel 2.2.) als ziemlich große, meist länglich geformte präsynaptische Endigungen dar, die durch multiple synaptische Kontaktstellen mit den postsynaptischen Elementen, bevorzugt Nervenzellsomata, verbunden sind. Im Bereich zwischen den einzelnen synaptischen Komplexen eines Calyxfortsatzes ist der Extrazellulärraum erweitert und oft durch einstrahlende Astrozytenfortsätze ausgefüllt (s. Abbildungen 21, 27, 28). Boutons dagegen sind kleinere, meist kolbenförmige und regelmäßig gestaltete präsynaptische Endigungen (s. Abbildungen 19, 25, 26) mit nur einer synaptischen Kontaktstelle. Diese ist niemals durch einen erweiterten Extrazellulärraum unterbrochen.

Da wir im Gegensatz zu anderen Autoren (LENN und REESE⁶¹, 1966; REESE⁹⁴, 1966; MCDONALD und RASMUSSEN⁶⁸, 1969; NAKAJIMA⁷¹, 1971) im Nucleus cochlearis ventralis sowohl Calyxendigungen mit runden (s. Abbildungen 21, 27) und ovalen (s. Abbildung 28) Vesikeln als auch Boutons mit runden (s. Abbildungen 20, 26) und ovalen (s. Abbildungen 19, 25) Vesikeln vorfanden, wurde jede Synapsengruppe (Calyxendigungen bzw. Boutons) nochmals nach ihrer Vesikelform unterteilt. Wir bemühten uns, pro Tier zehn Synapsen einer Untergruppe der quantitativen Auswertung zu unterwerfen - allerdings war dies wegen des relativ seltenen Vorkommens der "Calyces" mit ovalen und der Boutons mit runden Vesikeln nicht immer möglich -, so daß pro Tier etwa 30 bis 40 synaptische Endigungen vermessen wurden.

3.2.4. Statistische Auswertung

Die statistische Beurteilung der Untersuchungsergebnisse des rauen ER und der synaptischen Endigungen führten wir im großen und ganzen

nach dem in Kapitel 3.1.4.2. dargestellten Verfahren durch. Allerdings wurde - abweichend von der statistischen Auswertung der lichtmikroskopischen Befunde - die Irrtumswahrscheinlichkeit bei $\alpha = 0,01$ festgelegt. Entsprechend dieser Definition bezeichneten wir eine Differenz zwischen zwei Stichprobenmittelwerten als signifikant, wenn die Wahrscheinlichkeit $\alpha = 2 P$ für einen Fehler erster Art nach Ablehnung der Nullhypothese kleiner als $0,01 = 1 \%$, als hochsignifikant, wenn $\alpha = 2 P$ kleiner als $0,001 = 0,1 \%$ ist.

4. BEFUNDE

4.1. Lichtmikroskopische Befunde

4.1.1. Beschallungseinfluß auf die Kernvoluminamittelwerte von Ganglienzellen

4.1.1.1. Vergleich zwischen rechten und linken Nuclei cochleares

Die Kernvoluminamittelwerte der rechten und linken Nuclei cochleares unterschiedlich lang gereizter Tiere sind in Tabelle 1 sowie in den Diagrammen 1 und 2 einander gegenübergestellt. Da hierin über die Seitentrennung hinaus keine Einteilung der Meßdaten vorgenommen wurde, sind die Diagramme 1 und 2 sowie Tabelle 1 geeignet, einen Überblick über die allgemeine Beschallungsreaktion der Ganglienzellen in den Nuclei cochleares zu vermitteln.

Besonders in den beiden graphischen Darstellungen wird deutlich, wie ähnlich die Nervenzellkernvolumina beider Körperseiten auf funktionelle Belastung reagieren: Beide Kernvoluminamittelwerte wachsen nach dreißigminütiger Beschallung um etwa 120 %, d.h. auf über das Doppelte der "ruhenden" Nucleusgröße an, bleiben während des nächsten Stimulationsintervalls in etwa unverändert und vergrößern sich nach zweistündiger Irritation erneut hochsignifikant auf über das Dreifache der durchschnittlichen Kernvolumina ungereizter Ratten. Bei Fortdauer der Geräuscheinwirkung über zwei Stunden hinaus lassen sich keine statistisch signifikanten Veränderungen an den Neuronkernen einer der beiden Körperseiten erkennen.

Bei Betrachtung der in Diagramm 2 dargestellten Kurvenverläufe fällt auf, daß die Kernvoluminamittelwerte der linken Nuclei cochleares - im Vergleich zu denen der rechten Kerngebiete - viel ausgeprägteren Schwankungen während der Beschallung unterworfen sind:

	Rechts	Links
Unbeschallt	d = 4,96 μm V = 64,01 μm^3 ++	d = 5,09 μm V = 68,89 μm^3 ++
0,5 h beschallt	d = 6,58 μm V = 149,30 μm^3	d = 6,50 μm V = 143,73 μm^3
1 h beschallt	d = 6,51 μm V = 144,52 μm^3 ++	d = 6,29 μm V = 130,30 μm^3 ++
2 h beschallt	d = 7,20 μm V = 195,03 μm^3	d = 7,28 μm V = 201,77 μm^3
4 h beschallt	d = 7,46 μm V = 217,55 μm^3	d = 7,02 μm V = 180,91 μm^3 +
8 h beschallt	d = 7,50 μm V = 220,89 μm^3	d = 7,27 μm V = 201,52 μm^3
24 h beschallt	d = 7,21 μm V = 195,43 μm^3	d = 7,01 μm V = 179,98 μm^3

Tabelle 1: Durchmessermitelwerte (d) und Voluminamittelwerte (V) von Ganglienzellen der rechten und linken Nuclei cochleares unterschiedlich lang beschallter Ratten. Alle Zahlenangaben stellen jeweils arithmetische Mittelwerte von 750 Einzelergebnissen dar.
+ Statistisch signifikante Differenz (2 P < 0,05), ++ Statistisch hochsignifikante Differenz (2 P < 0,001) benachbarter Mittelwerte.

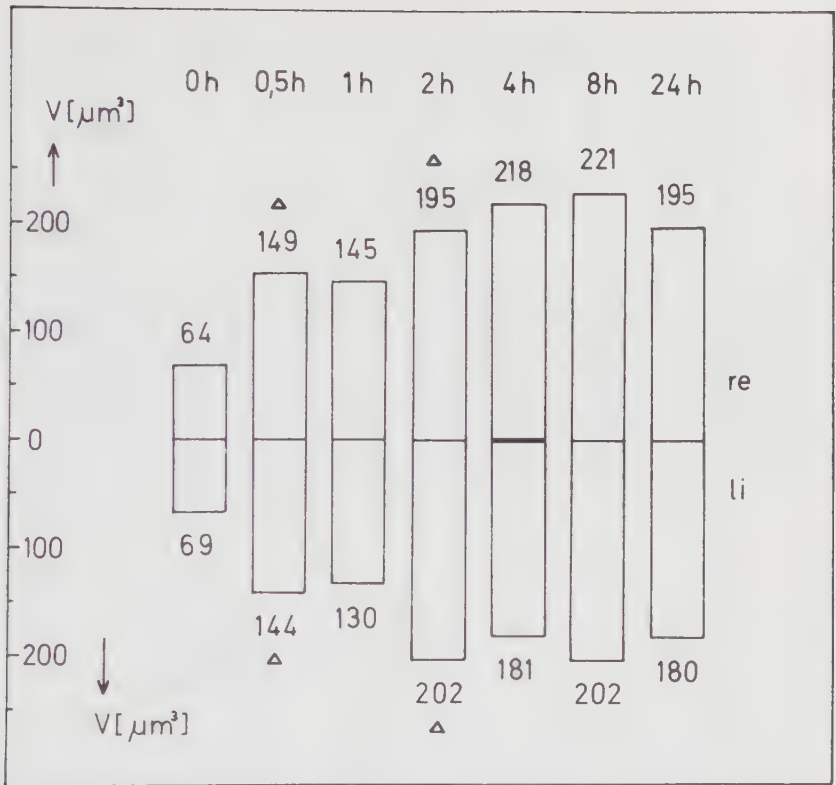


Diagramm 1: Kernvoluminamittelwerte von Ganglienzellen der rechten (re) und linken (li) Nuclei cochleares. Zeitangaben: Beschallungsdauer in Stunden. Zahlenangaben über bzw. unter den Säulen: Kernvoluminamittelwerte in μm^3 . Δ Statistisch signifikante Differenz ($2 P < 0,05$) zur nächst niedrigen Beschallungsstufe. Verdickte Mittellinie: Statistisch signifikante Differenz ($2 P < 0,05$) der Mittelwerte. Jede Säule repräsentiert den arithmetischen Mittelwert aus 750 Einzeldaten.

Diagramm 2 (vgl. Tabelle 1): Einfluß der Beschallungsdauer (Abszisse) auf die Kernvolumina (Ordinate) von Ganglienzellen der rechten (—) und linken (---) Nuclei cochleares. Jeder Punkt repräsentiert den aus 750 Einzeldaten gewonnenen arithmetischen Mittelwert. $\leftrightarrow$ Statistische Signifikanz ($2 P < 0,05$) der Mittelwertdifferenzen.

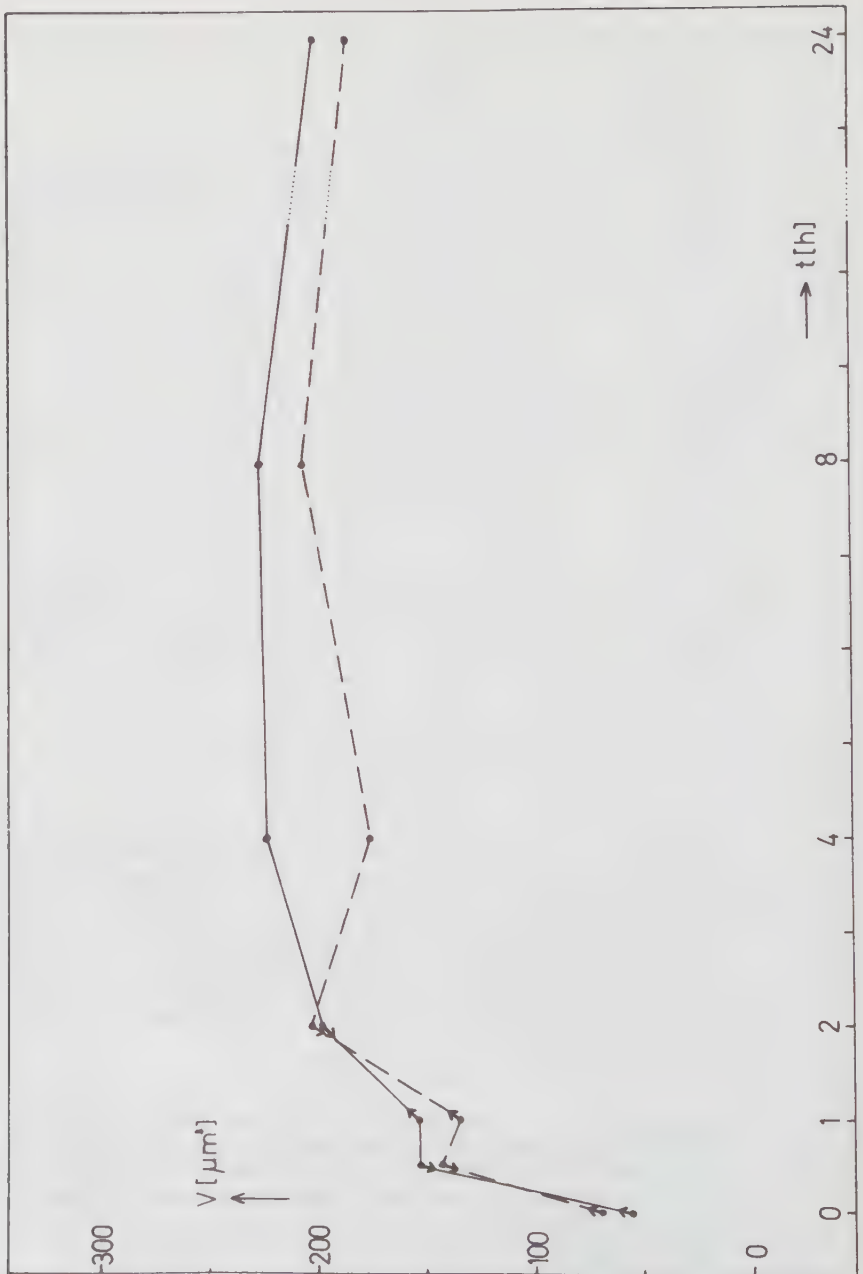


Diagramm 2

Es kommt zu ständig wechselnden Zu- und Abnahmen, von denen sich allerdings nur die Kernvoluminaanstiege nach halb- sowie nach zweistündiger Stimulation statistisch sichern lassen. Auffallend ist außerdem der aus den Kurven hervorgehende Kernvoluminaabfall zwischen 8 und 24 h Reizungsdauer auf beiden Körperseiten.

Darüberhinaus zeigt Diagramm 1, daß zwischen der durchschnittlichen Nucleusgröße von rechts bzw. links gelegenen Neuronen - mit Ausnahme des vierstündig beschallten Tieres - nie statistisch signifikante Differenzen auftreten. Bei dem genannten Tier beträgt die prozentuale Abweichung beider Werte über 6 %, wohingegen die übrigen rechts und links ermittelten Kernvoluminamittelwerte durchschnittlich nur um 2,5 % differieren.

4.1.1.2. Vergleich zwischen caudaler, mittlerer und cranialer Schnitthöhe

In den Tabellen 2 und 3 sowie in den Diagrammen 3, 4 und 5 sind die stimulationsinduzierten Kernvolumenreaktionen von Neuronen der einzelnen Schnitthöhen zusammengestellt. Dabei geht aus den Diagrammen 3 und 4 hervor, daß sich zwar einerseits die durchschnittlichen Nucleusgrößen der im caudalen, mittleren und cranialen Kernbereich liegenden Ganglienzellen einer Seite keineswegs parallel zueinander verändern, daß aber andererseits die Verläufe sich entsprechender Kurven der rechten und linken Körperseite weitgehend analog zueinander sind.

Im einzelnen kommt es nach dreißigminütiger Stimulation in allen drei Schnitthöhen der rechten wie linken Seite zu einer hochsignifikanten Nucleusvergrößerung auf etwa das Doppelte aller ursprünglichen Werte (vgl. Diagramme 3, 4). Die Kernvoluminamittelwerte der caudal gelegenen Neurone beider Seiten steigen im Laufe des näch-

	Caudale Schnitthöhe (rechts)	Mittlere Schnitthöhe (rechts)	Craniale Schnitthöhe (rechts)
Unbe- schallt	d = 5,22 V = 74,44	d = 5,14 V = 71,00	++ d = 4,53 V = 48,80
0,5 h be- schallt	++ d = 7,08 V = 185,98	++ d = 6,78 V = 163,16	++ d = 5,89 V = 106,73
1 h be- schallt	++ d = 7,24 V = 198,86	++ d = 6,88 V = 170,34	++ d = 5,41 V = 83,04
2 h be- schallt	++ d = 6,71 V = 158,33	++ d = 7,67 V = 236,00	++ d = 7,21 V = 198,87
4 h be- schallt	++ d = 8,02 V = 270,58	++ d = 7,65 V = 234,05	++ d = 6,72 V = 158,92
8 h be- schallt	d = 7,88 V = 256,52	++ d = 8,00 V = 268,40	++ d = 6,61 V = 151,44
24 h be- schallt	++ d = 7,85 V = 253,32	++ d = 7,42 V = 214,14	++ d = 6,33 V = 132,90

Tabelle 2: Mittelwerte der Durchmesser (d) in μm und der daraus berechneten Volumina (V) in μm^3 von Ganglienzellkernen aus der caudalen, mittleren und cranialen Schnitthöhe der rechten Nuclei cochleares verschieden lang beschallter Ratten. Jede einzelne Zahlenangabe stellt den arithmetischen Mittelwert aus 250 Einzeldaten dar. ++ Statistisch hochsignifikante Differenz ($2 P < 0,001$) benachbarter Mittelwerte.

	Caudale Schnittthöhe (links)		Mittlere Schnittthöhe (links)		Craniale Schnittthöhe (links)
Unbe- schallt	d = 5,10 V = 69,59	++	d = 5,66 V = 94,80	++	d = 4,50 V = 47,64
	++		++		++
0,5 h be- schallt	d = 6,54 V = 146,22	+	d = 6,72 V = 158,95	++	d = 6,24 V = 127,23
	++		++		++
1 h be- schallt	d = 6,89 V = 171,08	++	d = 6,46 V = 141,31	++	d = 5,52 V = 87,88
			++		++
2 h be- schallt	d = 6,76 V = 162,06	++	d = 7,63 V = 232,20		d = 7,49 V = 219,58
	++		++		++
4 h be- schallt	d = 7,73 V = 242,26	++	d = 7,16 V = 192,55	++	d = 6,15 V = 121,96
			++		++
8 h be- schallt	d = 7,76 V = 245,13		d = 7,73 V = 241,81	++	d = 6,33 V = 132,70
	+		++		+
24 h be- schallt	d = 7,60 V = 230,25	++	d = 7,18 V = 193,91	++	d = 6,23 V = 126,39

Tabelle 3: Mittelwerte der Durchmesser (d) in μm und der daraus berechneten Volumina (V) in μm^3 von Ganglienzellkernen aus der caudalen, mittleren und cranialen Schnittthöhe der linken Nuclei cochleares verschieden lang beschallter Ratten. Jede einzelne Zahlenangabe stellt den arithmetischen Mittelwert aus 250 Einzeldaten dar. + Statistisch signifikante Differenz ($2 P < 0,05$), ++ Statistisch hochsignifikante Differenz ($2 P < 0,001$) benachbarter Mittelwerte.

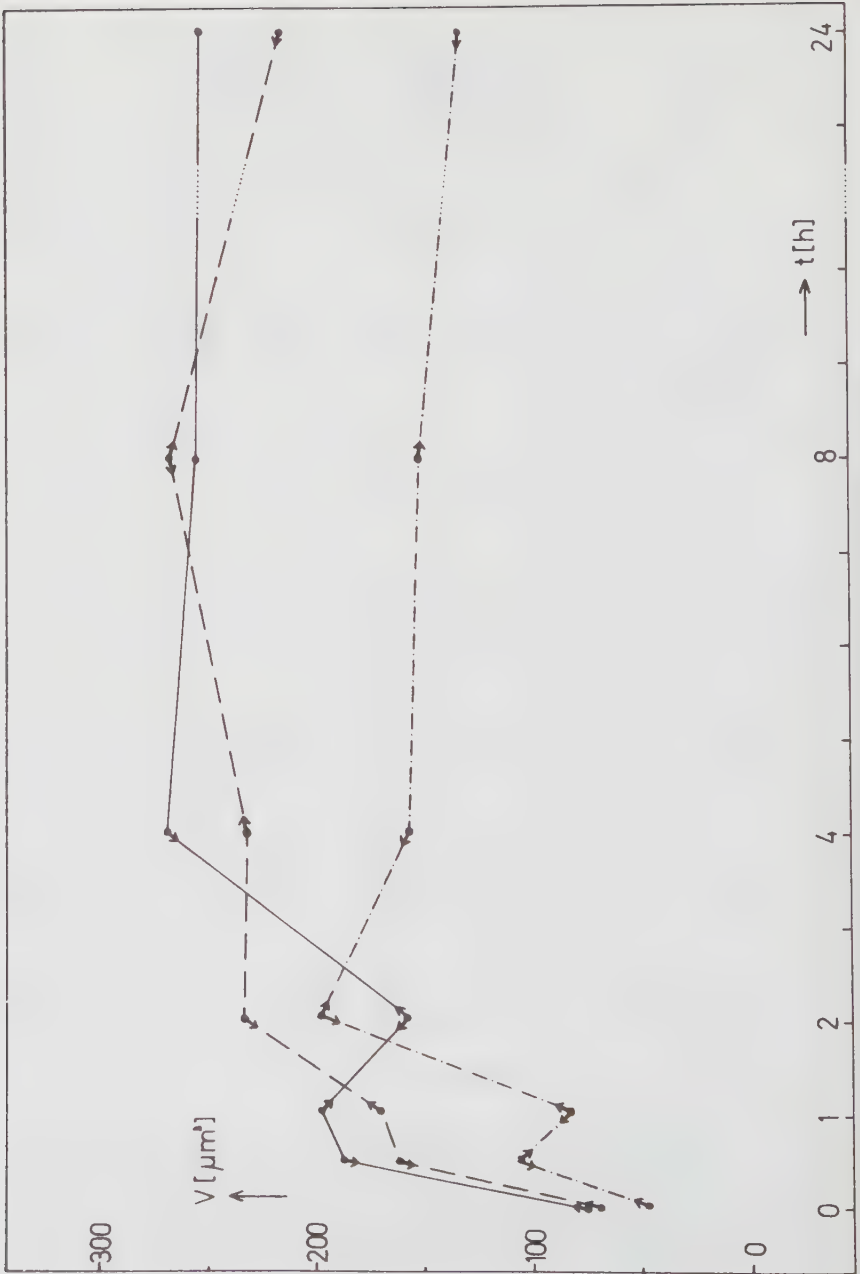


Diagramm 3

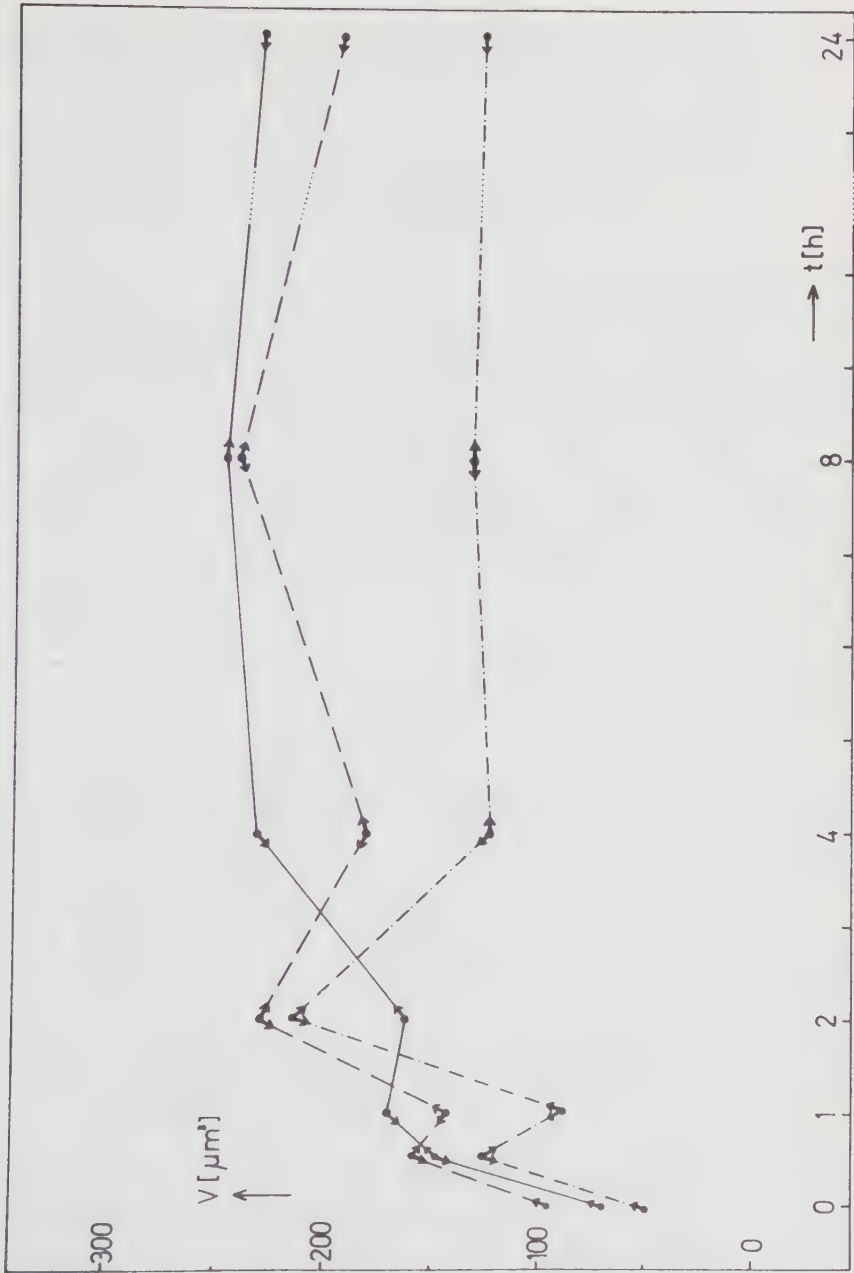


Diagramm 4

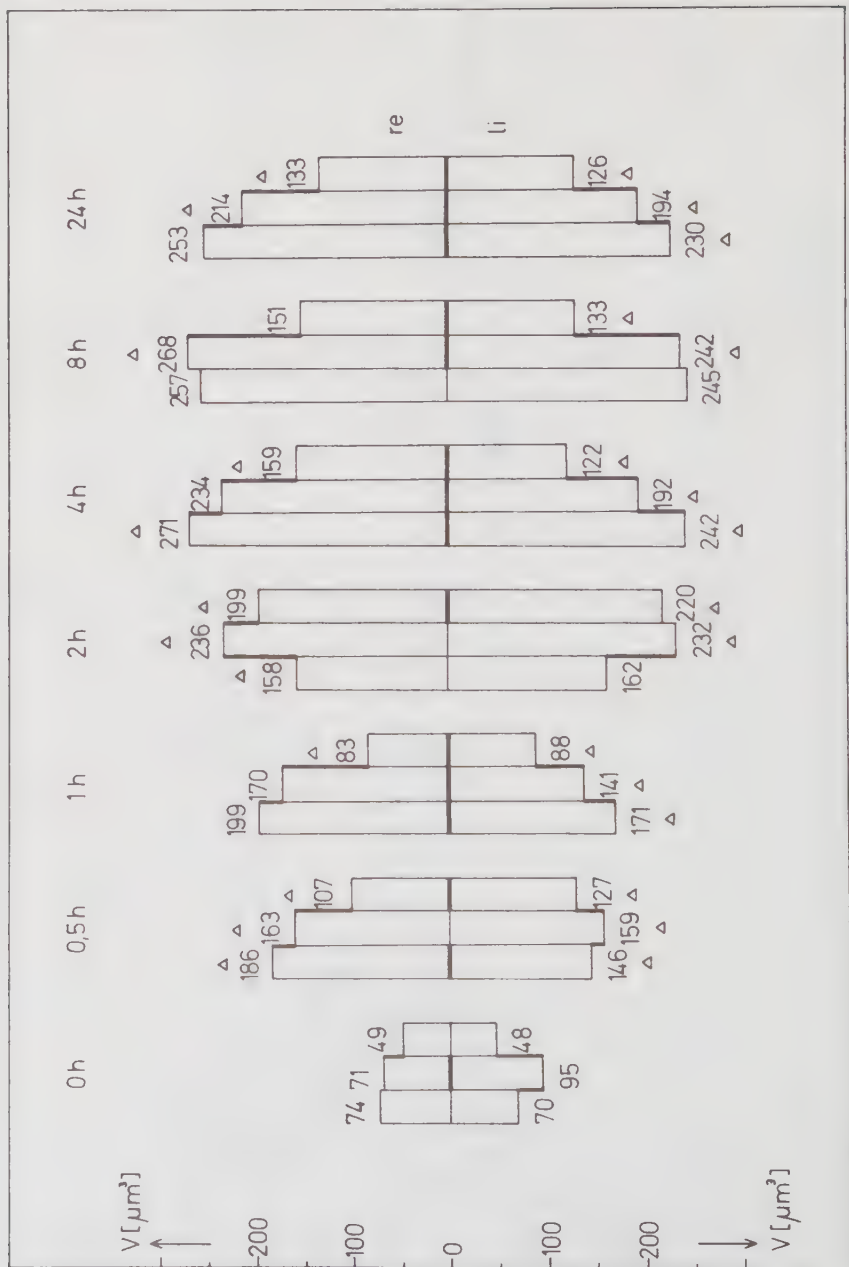


Diagramm 5

Diagramm 3 (vgl. Tabelle 2) und Diagramm 4 (vgl. Tabelle 3): Einfluß der Beschallungsdauer (Abszissen) auf die Kernvolumina (Ordinaten) von Ganglienzellen aus der caudalen (—), mittleren (— — —) und cranialen (· — · — ·) Schnitthöhe der rechten (Diagramm 3) bzw. linken (Diagramm 4) Nuclei cochleares. Jeder Punkt steht als arithmetischer Mittelwert für 250 Einzelergebnisse. $\leftrightarrow$ Statistische Signifikanz ($2 P < 0,05$) der Mittelwertdifferenzen.

Diagramm 5 (vgl. Tabellen 2, 3): Kernvoluminamittelwerte von Ganglienzellen aus der caudalen (jeweils linke Säule einer Dreiergruppe), mittleren (jeweils mittlere Säule) und cranialen (jeweils rechte Säule) Schnitthöhe der rechten (re) bzw. linken (li) Nuclei cochleares. Zeitangaben: Beschallungsdauer in Stunden. Zahlenangaben über bzw. unter den Säulen: Kernvoluminamittelwerte in μm^3 . Δ Statistisch signifikante Differenz ($2 P < 0,05$) zur entsprechenden, d.h. ebenfalls links, in der Mitte oder rechts einer Dreiergruppe liegenden Säule der nächst niedrigen Beschallungsstufe. Verdickte Trennungslinien: Statistisch signifikante Differenzen ($2 P < 0,05$) zwischen den beiden sich berührenden Säulen. Alle Säulen stellen jeweils den arithmetischen Mittelwert aus 250 Einzelergebnissen dar.

sten Beschallungsschrittes weiterhin an, um nach insgesamt zweistündiger Reizung wieder kleiner zu werden, und zwar auf der rechten Seite hochsignifikant um ca. 20 %, auf der linken dagegen nur geringfügig um etwa 5 % gegenüber dem einstündig irritierten Tier. Bei Fortdauer der Schalleinwirkung schwellen die Nervenzellkerne im caudalen Kernbereich erneut um immerhin 70 % auf der rechten und um 50 % auf der linken Seite an. Das dadurch erreichte durchschnittliche Nucleusvolumen bleibt während des folgenden Stimulationsintervalls, d.h. zwischen vier- und achtstündiger Reizung beidseitig ungefähr konstant und fällt schließlich nach 24-stündiger Reizung auf der linken Körperseite signifikant ($2 P < 0,05$) ab.

Aus den Diagrammen 3 und 4 geht hervor, wie auffallend ähnlich der Kurvenverlauf von gleichseitig gelegenen Kernen des mittleren und cranialen Bereichs ist: Nach einstündiger Beschallungsdauer sinken die Kernvolumina des linken mittleren sowie der beiden

cranialen Kerngebiete hochsignifikant gegenüber den 0,5 h gereizten Neuronen ab, wohingegen die Werte von Nervenzellen der rechten mittleren Schnitthöhe etwa gleichbleiben. Im nächsten Stimulationsintervall, d.h. zwischen ein- und zweistündiger Irritationszeit, vergrößern sich alle Ganglienzellkerne der mittleren und cranialen Schnitthöhe erheblich - im cranialen Kerngebiet um etwa 140 bis 150 % gegenüber der nächst niedrigen Beschallungsstufe. Damit werden nach zweistündiger Reizung in diesen Bereichen die maximalen Werte erreicht. Nach vier Stunden dauernder funktioneller Neuronbelastung resultieren an den Ganglienzellnuclei der cranialen Gebiete sowie an den linksseitigen Nuclei der mittleren Schnitthöhe infolge hochsignifikanter Kerngrößenverminderungen um etwa 20 bis 40 % niedrigere Voluminawerte als bei dem 2 h beschallten Tier. Die Volumina von Neuronen des mittleren Kerngebiets schwellen bei Fortdauer der Geräuscheinwirkung erneut an, wodurch sie ihren größten Durchschnittswert während der gesamten Reizungsfolge erreichen. Im letzten Beschallungsintervall fallen alle Werte in den mittleren und cranialen Bereichen der Nuclei cochleares deutlich, zum Großteil hochsignifikant ab.

Aufgrund der gleichsinnigen Größenveränderungen von Ganglienzellkernen, die auf gleicher Höhe, aber verschiedenen Körperseiten liegen, ergeben sich rechts und links gleiche Verhältnisse der Schnitthöhenmittelwerte zueinander (vgl. Diagramm 5). Dagegen verändern sich die Relationen zwischen den einzelnen Schnitthöhenmittelwerten mit zunehmender Stimulationszeit, da - wie oben gezeigt - die durchschnittlichen Kernvolumina der einerseits caudal und andererseits in der Mitte und cranial gelegenen Neurone durch wellenförmige Schwankungen ausgezeichnet sind, die um einen Beschallungsschritt gegeneinander "phasenverschoben" sind, so daß der Zellkernvergrößerung des caudalen Bereichs im allgemeinen eine Verkleinerung der Neuronkerne des mittleren und cranialen Gebiets gegenübersteht. Da-

durch kommt es beispielsweise dazu, daß sowohl bei der 0,5 h als auch bei der 2 h irritierten Ratte die in der Mitte des linken Kerngebiets lokalisierten Neuronkerne relativ am größten sind, wohingegen bei den 1 h, 4 h und 24 h gereizten Tieren die caudal liegenden Ganglienzellen einen gegenüber den Neuronen der mittleren Schnitthöhe signifikant höheren Kernvoluminamittelwert aufweisen.

4.1.1.3. Vergleich zwischen dorsomedial, intermedial und ventrolateral gelegenen Kerngebiet

Im Gegensatz zu der unterschiedlichen Reaktionsweise der nach Schnitthöhe zusammengefaßten Ganglienzellkerne (vgl. Kapitel 4.1.1.2.) zeigen die Nucleusvolumina der dorsomedial, intermedial und ventrolateral innerhalb des gesamten Kerngebiets gelegenen Neurone ein wesentlich einheitlicheres Verhalten auf den Beschallungsreiz hin (vgl. Tabellen 4, 5 und Diagramme 6, 7, 8). Ähnlich den in den drei Schnitthöhen erhaltenen Durchschnittswerten weisen die gemittelten Kernvolumina der dorsomedial, intermedial und ventrolateral lokalisierten Neurone jedoch im großen und ganzen seitengleiches Verhalten auf.

Nach halbstündiger Stimulation schwellen die Kernvolumina in den dorsomedialen, intermedialen und ventrolateralen Gebieten beider Seiten auf über das Doppelte des Ruhewertes an, wobei die medial gelegenen Nuclei eine wesentlich heftigere Reaktion zeigen als die weiter lateral lokalisierten (vgl. Diagramm 8). Aus diesem Grund kommt es dazu, daß der kontinuierliche, statistisch zu sichernde Kernvoluminaabfall von dorsomedial über intermedial nach ventrolateral, wie er für das ungereizte Tier charakteristisch ist, nach dreißigminütiger Irritation verschwindet und dem Vorhandensein etwa gleich großer Kerne in allen Bereichen weicht. Im nächsten Be-

	Ventro- laterales Gebiet (rechts)	Inter- mediales Gebiet (rechts)	Dorso- mediales Gebiet (rechts)
Unbe- schallt	d = 5,17 V = 72,46	d = 4,95 V = 63,32	d = 4,77 V = 56,87
	++	++	++
0,5 h be- schallt	d = 6,67 V = 155,23	d = 6,46 V = 141,39	d = 6,62 V = 151,57
	+	+	
1 h be- schallt	d = 6,66 V = 155,02	d = 6,37 V = 135,11	d = 6,50 V = 144,06
	++	++	++
2 h be- schallt	d = 7,19 V = 194,23	d = 7,16 V = 192,00	d = 7,24 V = 195,99
	++		
4 h be- schallt	d = 7,82 V = 250,35	d = 7,22 V = 197,20	d = 7,34 V = 207,33
	++		++
8 h be- schallt	d = 7,38 V = 210,80	d = 7,30 V = 203,39	d = 7,82 V = 250,43
		++	
			++
24 h be- schallt	d = 7,26 V = 199,95	d = 7,19 V = 194,88	d = 7,18 V = 193,85

Tabelle 4: Mittelwerte der Durchmesser (d) in μm und der daraus berechneten Volumina (V) in μm^3 von Ganglienzellkernen aus den ventrolateral, intermedial und dorsomedial gelegenen Bereichen des rechten Akustikuskomplexes unterschiedlich lang beschallter Ratten. Alle Zahlenangaben sind aus jeweils 250 Einzelwerten gemittelt. + Statistisch signifikante Differenz ($2 P < 0,05$), ++ Statistisch hochsignifikante Differenz ($2 P < 0,001$) benachbarter Mittelwerte.

	Ventro- laterales Gebiet (links)		Inter- mediales Gebiet (links)		Dorso- mediales Gebiet (links)
Unbe- schallt	d = 5,31 V = 78,18	++	d = 5,05 V = 67,29	+	d = 4,91 V = 61,84
	++		++		++
0,5 h be- schallt	d = 6,50 V = 143,50		d = 6,43 V = 139,12		d = 6,57 V = 148,49
			++		++
1 h be- schallt	d = 6,50 V = 143,77	++	d = 6,13 V = 120,49		d = 6,23 V = 126,51
	++		++		++
2 h be- schallt	d = 7,50 V = 220,58	++	d = 7,07 V = 185,10		d = 7,22 V = 196,90
	+		+		
4 h be- schallt	d = 7,18 V = 193,97	++	d = 6,81 V = 165,48	+	d = 7,06 V = 184,10
			+		++
8 h be- schallt	d = 7,09 V = 186,96		d = 7,03 V = 182,01	++	d = 7,70 V = 238,74
					++
24 h be- schallt	d = 7,24 V = 198,35	++	d = 6,93 V = 174,38		d = 6,85 V = 168,59

Tabelle 5: Mittelwerte der Durchmesser (d) in μm und der daraus berechneten Volumina (V) in μm^3 von Ganglienzellkernen aus den ventro-lateral, intermedial und dorsomedial gelegenen Bereichen des linken Akustikuskomplexes unterschiedlich lang beschallter Ratten. Alle Zahlenangaben sind aus jeweils 250 Einzelwerten gemittelt. + Statistisch signifikante Differenz ($2 P < 0,05$), ++ Statistisch hochsignifikante Differenz ($2 P < 0,001$) benachbarter Mittelwerte.

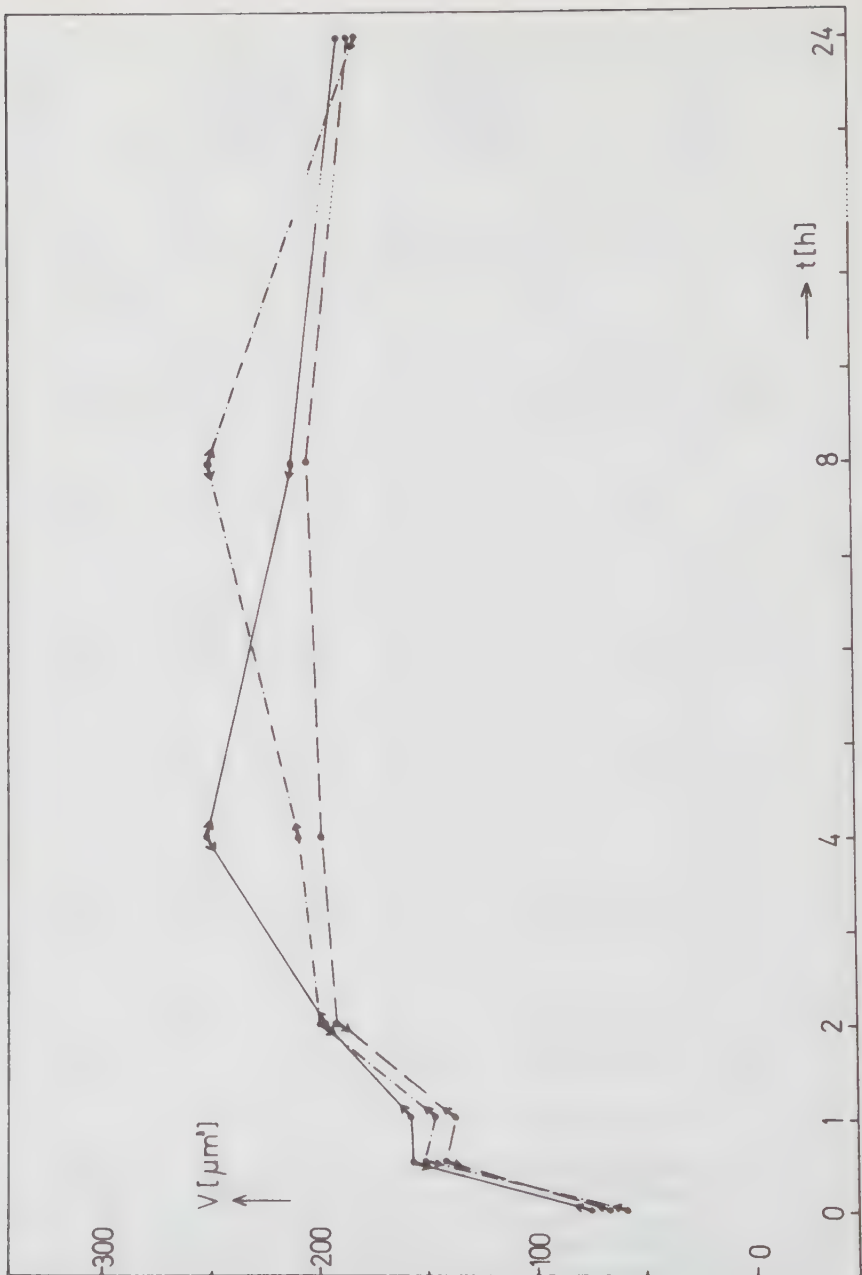


Diagramm 6

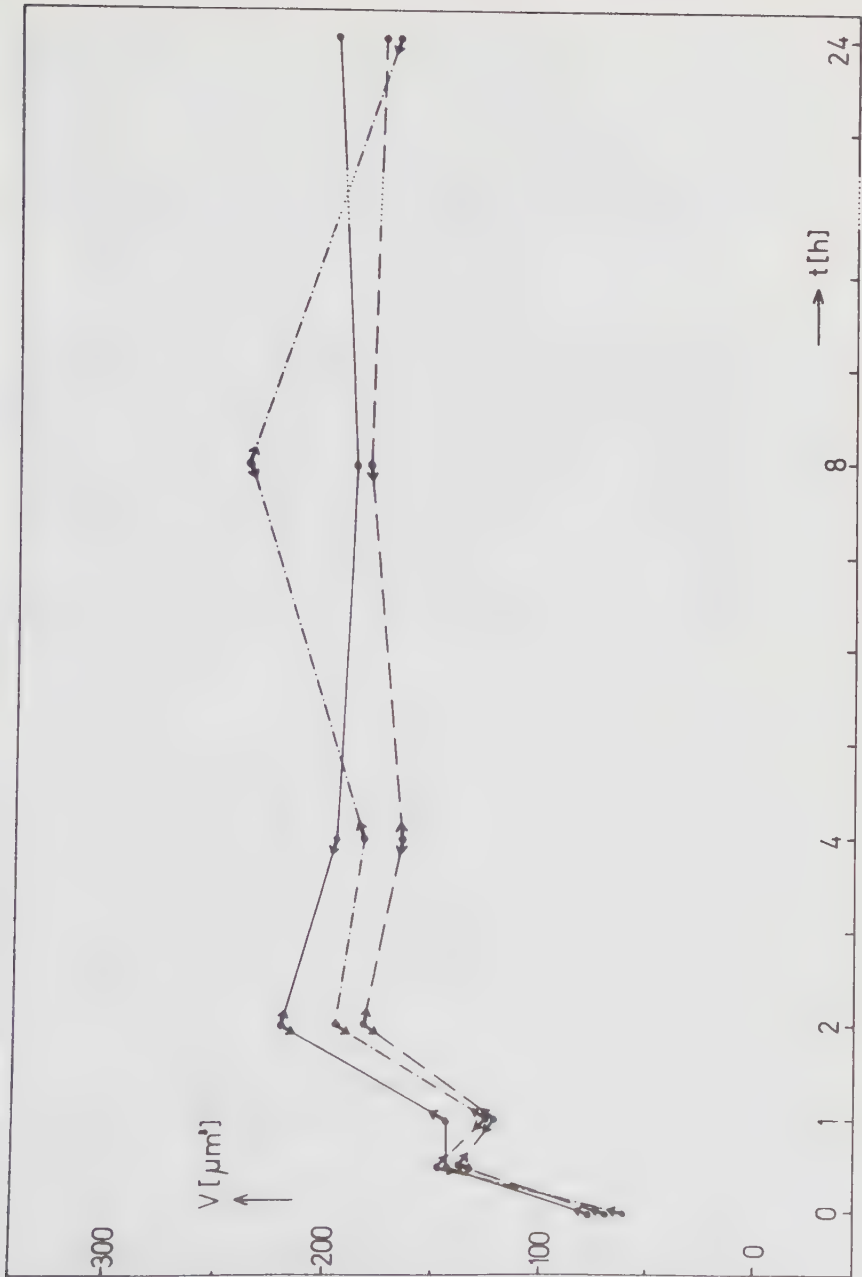


Diagramm 7

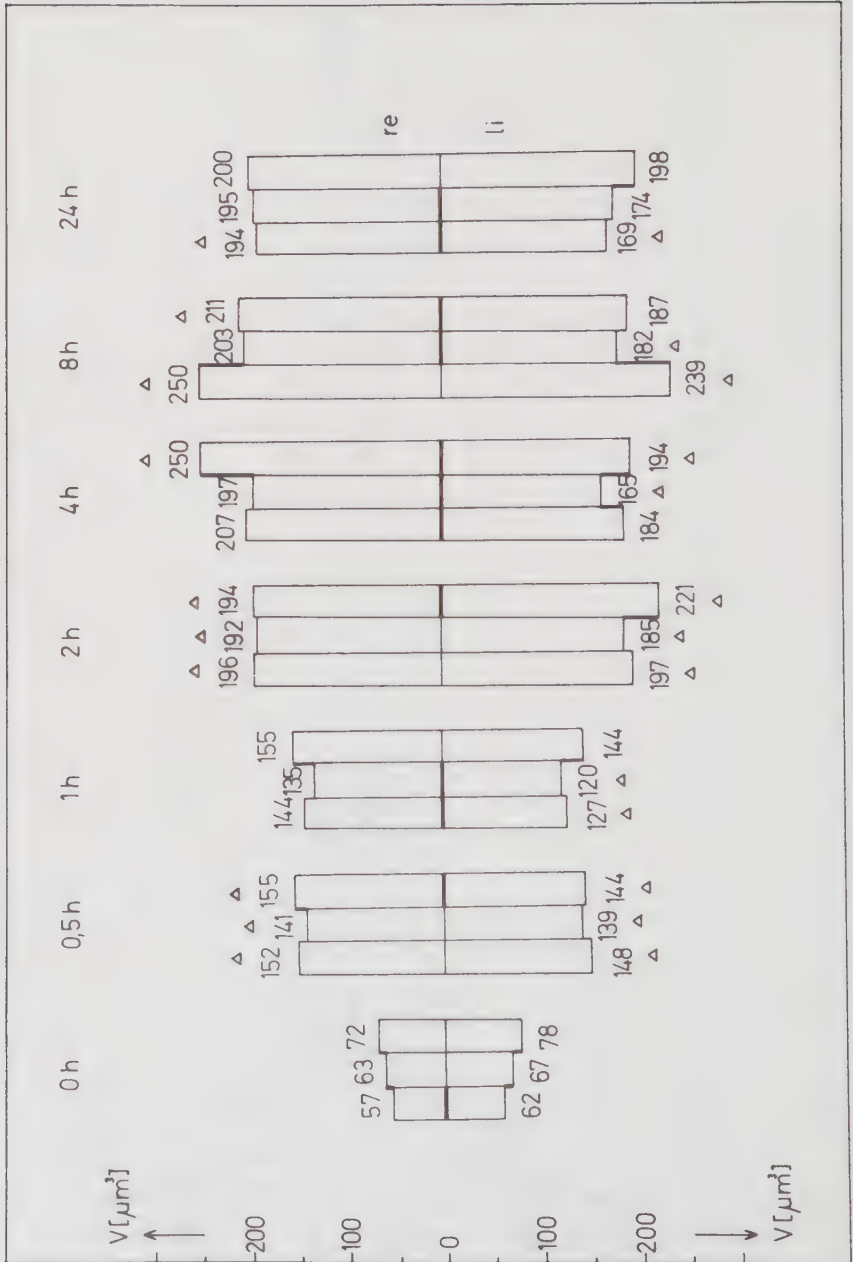


Diagramm 8

Diagramm 6 (vgl. Tabelle 4) und Diagramm 7 (vgl. Tabelle 5): Einfluß der Beschallungsdauer (Abszissen) auf die Kernvolumina (Ordinaten) von Ganglienzellen aus dem ventrolateral (—), intermedial (— — —) und dorsomedial (· — · — ·) gelegenen Bereich des rechten (Diagramm 6) bzw. linken (Diagramm 7) Akustikuskomplexes. Jeder Punkt repräsentiert den Mittelwert von 250 Einzelergebnissen. ↔ Statistische Signifikanz ($2 P < 0,05$) der Mittelwertdifferenzen.

Diagramm 8 (vgl. Tabellen 4, 5): Kernvoluminamittelwerte von Ganglienzellen aus dem dorsomedial (jeweils linke Säule einer Dreiergruppe), intermedial (jeweils mittlere Säule) und ventrolateral (jeweils rechte Säule) gelegenen Bereich des rechten (re) bzw. linken (li) Akustikuskomplexes. Zeitangaben: Beschallungsdauer in Stunden. Zahlenangaben über bzw. unter den Säulen: Kernvoluminamittelwerte in μm^3 . Δ Statistisch signifikante Differenz ($2 P < 0,05$) zur entsprechenden, d.h. ebenfalls links, in der Mitte oder rechts einer Dreiergruppe liegenden Säule der nächst niedrigen Beschallungsstufe. Verdickte Trennungslinie: Statistisch signifikante Differenz ($2 P < 0,05$) zwischen den beiden sich berührenden Säulen. Alle Säulen stellen jeweils den arithmetischen Mittelwert aus 250 Einzeldaten dar.

schallungsschritt bleibt die durchschnittliche Kerngröße ventrolateral gelegener Neurone konstant, während die Nuclei in den übrigen Bereichen - auf der linken Seite sogar hochsignifikant - kleiner werden. Dadurch entsteht eine räumliche Kernvoluminaverteilung, die durch signifikant größere ventrolateral gelegene Kerne ausgezeichnet ist.

Nach zweistündiger Beschallung wachsen die Kernvolumina erneut in allen Abschnitten hochsignifikant an, und zwar mit einer durchschnittlichen Zuwachsrate von 35 % rechts und von etwa 45 % links. Beim Vergleich der Diagramme 6 und 7 fällt darüberhinaus auf, daß die Kernvoluminasteigerung der ventrolateral gelegenen Kerne auf der linken Seite besonders ausgeprägt ist, daß aber bei den Kernen dieses Gebietes bereits während des nächsten Stimulationsschrittes,

d.h. in der Zeitspanne zwischen zwei- und vierstündiger Irritation, eine statistisch signifikante Verkleinerung eintritt. Dagegen erreichen die ventrolateral lokalisierten Nuclei der rechten Körperseite erst während dieses Reizungsintervalls durch hochsignifikante Vergrößerung ihr maximales Volumen. Die Nuclei der übrigen Kernbereiche lassen nach vierstündiger Stimulation im allgemeinen nur geringfügige Veränderungen gegenüber den Nuclei zweistündig belasteter Zellen erkennen.

In den Zeiträumen zwischen 4 und 8 h sowie zwischen 8 und 24 h Reizeinwirkung zeigen die ventrolateral gelegenen Zellkerne der rechten Seite deutliche Volumenabnahmen, während die der linken Seite etwa gleichbleiben und keinen signifikanten Veränderungen unterliegen. Im Gegensatz hierzu schwellen die intermedial und dorsomedial lokalisierten Nuclei nochmals zwischen vier und acht Stunden Beschallungsdauer an, wobei vor allem die erhebliche Anschwellung dorsomedial gelegener Kerne um 21 % (rechts) bzw. 30 % (links) gegenüber der vierstündig stimulierten Ratte ins Auge fällt. Durch diese Volumensteigerung entstehen im dorsomedialen Gebiet die größten während des gesamten Stimulationsverlaufs im Akustikuskomplex beobachteten Kerne. Im nächsten Reizungsschritt vermindert sich die Kerngröße dorsomedialer Ganglienzellen hochsignifikant um 22,5 % auf der rechten und 29 % auf der linken Seite, d.h. die Abnahmerate dieses Beschallungsintervalls entspricht der Zuwachsrate dorsomedial gelegener Zellkerne zwischen vier- und achtstündiger Reizung.

4.1.2. Beschallungseinfluß auf die Häufigkeitsverteilungskurven der Kernvolumina

Wie in Kapitel 3.1.4.1. dargestellt, zerlegten wir mit Hilfe eines "curve resolver" die Häufigkeitsverteilungskurven, die sich bei der

karyometrischen Auswertung der Ganglienzellen aus den Nuclei cochleares dorsalis et ventralis ergaben, in die sie zusammensetzenden normalverteilten Untereinheiten. Dadurch gelang es, die asymmetrischen, heterogenen Zellkernpopulationen, die wir aus den Messungen erhielten, in biologisch einheitliche Komponenten aufzulösen. Als charakteristische Größe dieser normalverteilten Populationen oder Kernklassen wählten wir den jeweiligen Mittelwert der GAUSSschen Glockenkurven. Bei der Zusammenstellung der Teilkollektivmittelwerte nach ihrer Größe fiel auf, daß sie erstaunlich gut mit zwei geometrischen Folgen der Form $V_1, V_1\sqrt{2}, V_2, V_2\sqrt{2}, V_4, V_4\sqrt{2} \dots$ mit $V_1 = 23,1 \mu\text{m}^3$ bzw. $V_1 = 27,5 \mu\text{m}^3$ ($V_2 = 2 V_1, V_4 = 4 V_1$) übereinstimmen und als solche angeordnet werden können (vgl. Tabellen 6, 7).

4.1.2.1. Unbeschallte Ratte

Die Häufigkeitsverteilungskurven sowie die zugehörigen Teilkollektive von Neuronenkernen aus den rechten bzw. linken Nuclei cochleares der ungereizten Ratte sind in den Diagrammen 9 und 10 abgebildet. Bei ihrem Vergleich fällt auf, daß zwar beide Kurven etwa gleiche Variationsbreite und gleiche Asymmetrie aufweisen, daß aber die gesamte rechtsseitige Kurve zu kleineren Werten hin verschoben ist. Daraus resultiert ein allerdings nicht statistisch signifikant kleinerer arithmetischer Mittelwert in den rechten Nuclei cochleares (Diagramm 1).

Bei dem Versuch, den acht (rechts) bzw. zehn (links) Teilkollektivmittelwerten eine gesetzmäßige Beziehung zugrunde zu legen, ergibt sich eine gute Übereinstimmung mit den Werten der beiden oben erwähnten geometrischen Folgen (Tabelle 6, 7). Die durchschnittliche prozentuale Abweichung von den theoretischen Daten beträgt 2,8 %,

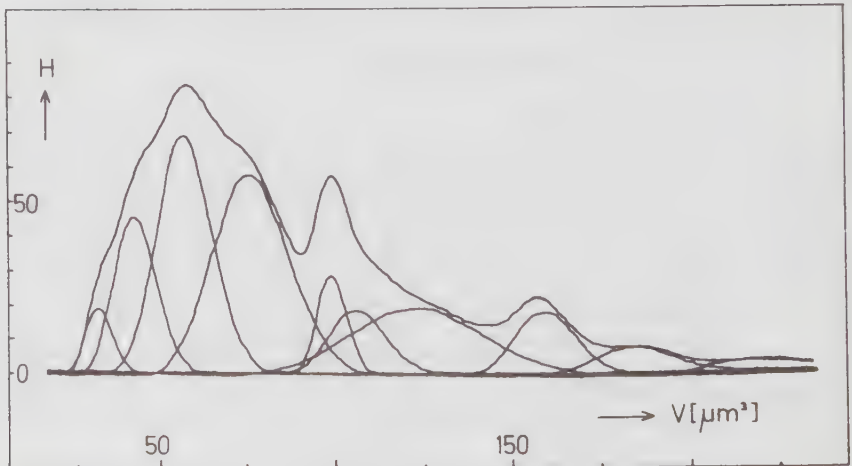
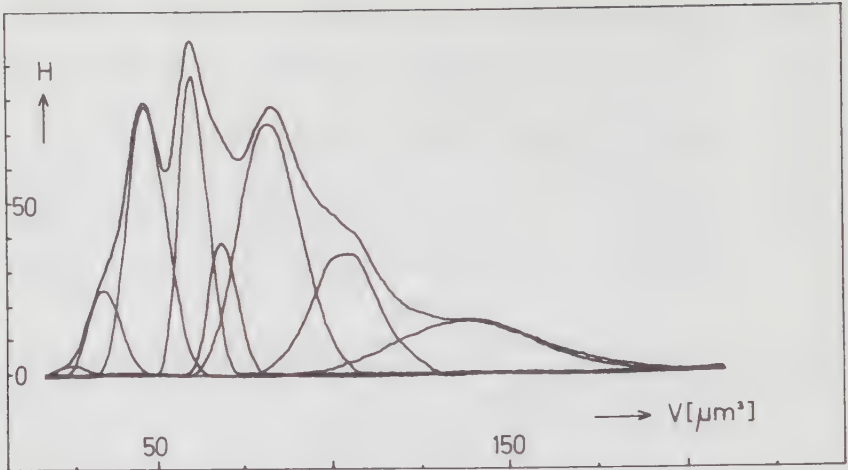


Diagramme 9 und 10: Unbeschallte Ratte. Häufigkeitsverteilung der Kernvolumina von Ganglienzellen aus den rechten (Diagramm 9) sowie linken (Diagramm 10) Nuclei cochleares. Dargestellt sind die Gesamtpopulation (Umhüllende) der Kernvolumina und die sie zusammensetzenden normalverteilten Einzelkollektive.

die maximale Abweichung (7 %) erscheint in der Kernklasse V_4 der geometrischen Folge 2. Darüberhinaus sind einerseits rechte und linke Teilkollektivmittelwerte einander sehr ähnlich, oft sogar identisch, andererseits liegen die Flächenanteile sich entsprechender Kernklassen beider Seiten in der gleichen Größenordnung.

4.1.2.2. 0,5 h beschallte Ratte

Nach halbstündiger Beschallung vergrößern sich die Variationsbreiten der Kurven (Diagramme 11, 12) auf $400 \mu\text{m}^3$ (links) bzw. $500 \mu\text{m}^3$ (rechts), d.h. auf über das Doppelte gegenüber dem nicht stimulierten Tier. Der Kurvenbeginn dagegen verschiebt sich relativ geringfügig von etwa $20 \mu\text{m}^3$ auf $50 \mu\text{m}^3$, so daß im ganzen eine deutliche Verlagerung der Volumina zu größeren Werten hin resultiert. Darüberhinaus entsteht eine wesentlich stärkere Kurvenasymmetrie, die ihren Ausdruck in einer erheblich größeren Differenz zwischen absolutem Kurvenmaximum und arithmetischem Mittelwert im Vergleich zur ungeritzten Ratte findet.

Die jeweils dreizehn Kernklassen beider Seiten entsprechen sich - wie bei der unbeschallten Ratte - sowohl hinsichtlich ihres Mittelwertes als auch ihrer Auftretswahrscheinlichkeit und lassen sich ohne Schwierigkeiten in die beiden theoretisch aufgestellten geometrischen Folgen einordnen (Tabellen 6, 7). Die durchschnittliche Abweichung der experimentell ermittelten Werte von den theoretisch gefundenen beträgt 3,3 % und ist damit die größte durchschnittliche Abweichungsrate unserer gesamten Versuchsreihe. Außerdem wurden in die Kernvolumenklasse $V_8 \sqrt[2]{2}$ der geometrischen Folge 1 beidseitig je zwei Werte eingeordnet.

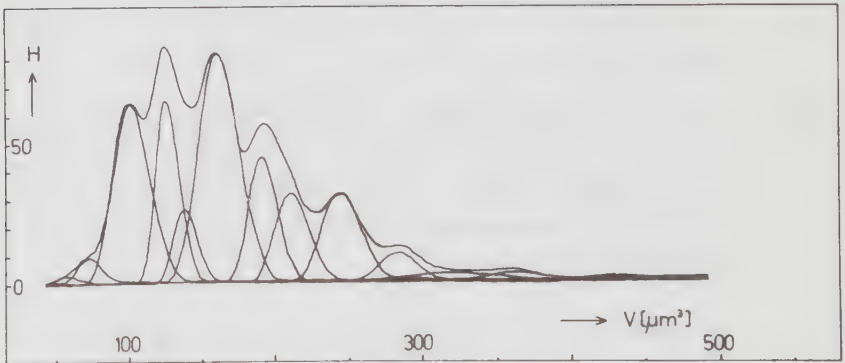
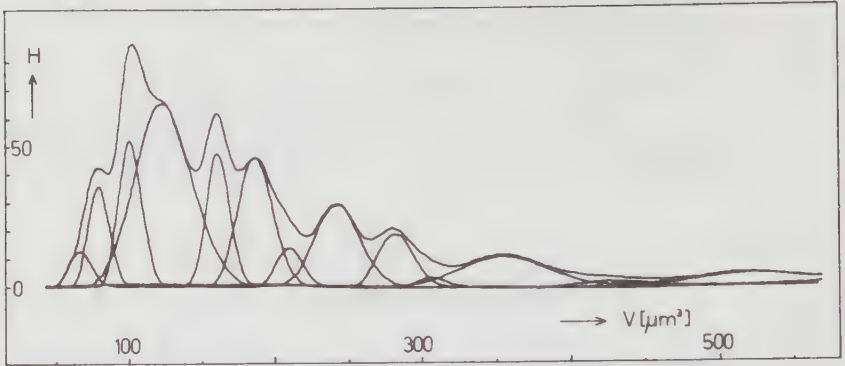


Diagramme 11 und 12: 0,5 h beschallte Ratte. Häufigkeitsverteilung der Kernvolumina von Ganglienzellen aus den rechten (Diagramm 11) sowie linken (Diagramm 12) Nuclei cochleares. Dargestellt sind die Gesamtpopulation (Umhüllende) der Kernvolumina und die sie zusammensetzenden normalverteilten Einzelkollektive.

4.1.2.3. 1 h beschallte Ratte

Die Häufigkeitsverteilungskurven des 1 h gereizten Tieres (Diagramme 13, 14) zeigen viele Ähnlichkeiten mit denen der halbstündig stimulierten Ratte: Die Variationsbreite bleibt gleich, Kurvenbeginn und -ende sind identisch, die Differenz zwischen arithmetischem Mittelwert und absolutem Kurvenmaximum liegt in der gleichen Größenordnung. Das bedeutet, daß die nach dreißigminütiger Beschallung festzustellenden Auswirkungen auf die Häufigkeitsverteilungskurven der Kernvolumina auch nach einstündiger Reizung noch nahezu unverändert erkennbar sind.

Dagegen ergibt sich bei der Einordnung der dreizehn experimentell gefundenen Teilkollektivmittelwerte in die beiden geometrischen Folgen (Tabellen 6, 7) mit 2,9 % eine kleinere Abweichungsrate als beim halbstündig stimulierten Tier. Auffallend gering ist die nur etwa 1 % betragende Abweichung der numerisch größten Mittelwerte (Teilkollektive V_{16} und $V_{16} \sqrt{2}$ der geometrischen Folgen 1 und 2) im Vergleich zu den entsprechenden Werten der 0,5 h stimulierten Ratte. Außerdem ist erwähnenswert, daß - ebenso wie beim 0,5 h gereizten Tier - in die Kernklasse $V_8 \sqrt{2}$ zwei Volumwerte eingeordnet wurden, daß aber die Einzelwerte etwas größer geworden sind.

4.1.2.4. 2 h beschallte Ratte

Beim Übergang von ein- zu zweistündiger Beschallungsdauer findet eine ähnliche Verschiebung statt wie nach halbstündiger Reizung. Die kleinsten Voluminawerte finden sich nicht mehr bei $45 \mu\text{m}^3$ wie bei der 1 h stimulierten Ratte, sondern erst bei 70 bis $75 \mu\text{m}^3$ (Diagramme 15, 16). In ähnlicher Weise vergrößern sich die maximalen Werte von 550 auf $700 \mu\text{m}^3$ rechts und von 450 auf $650 \mu\text{m}^3$ links. Da-

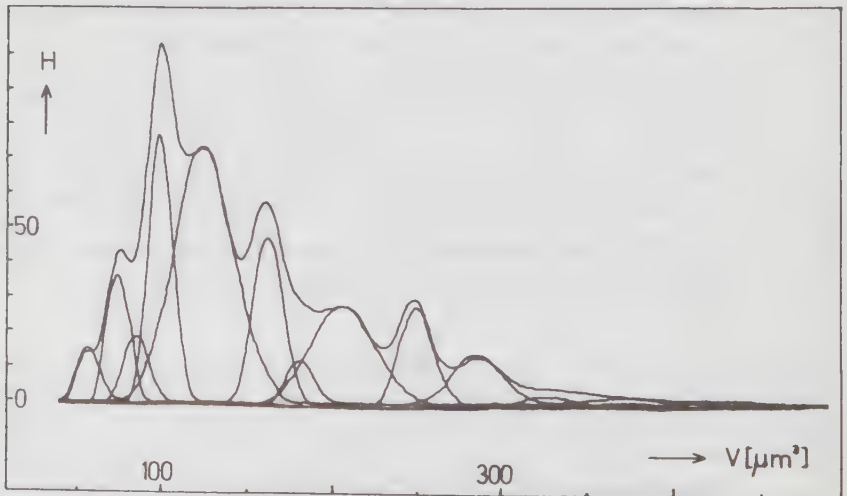
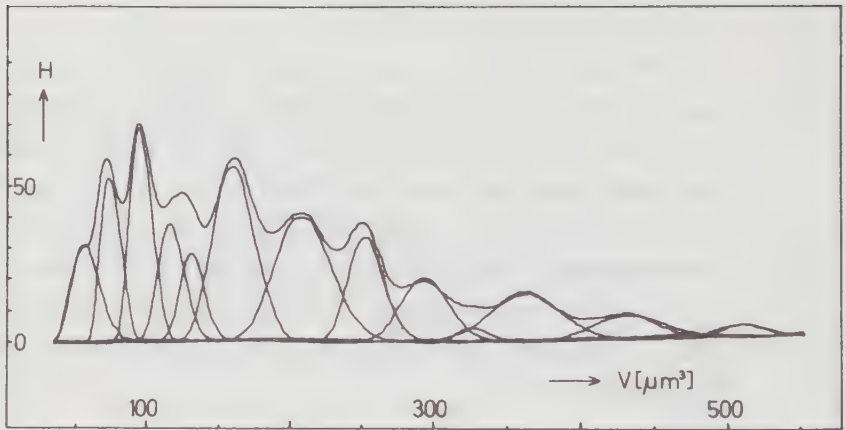


Diagramme 13 und 14: 1 h beschallte Ratte. Häufigkeitsverteilung der Kernvolumina von Ganglienzellen aus den rechten (Diagramm 13) sowie linken (Diagramm 14) Nuclei cochleares. Dargestellt sind die Gesamtpopulation (Umhüllende) der Kernvolumina und die sie zusammensetzenden normalverteilten Einzelkollektive.

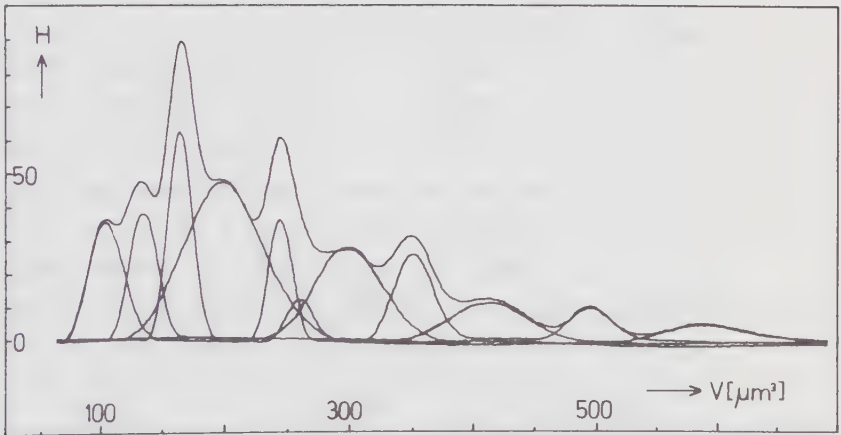
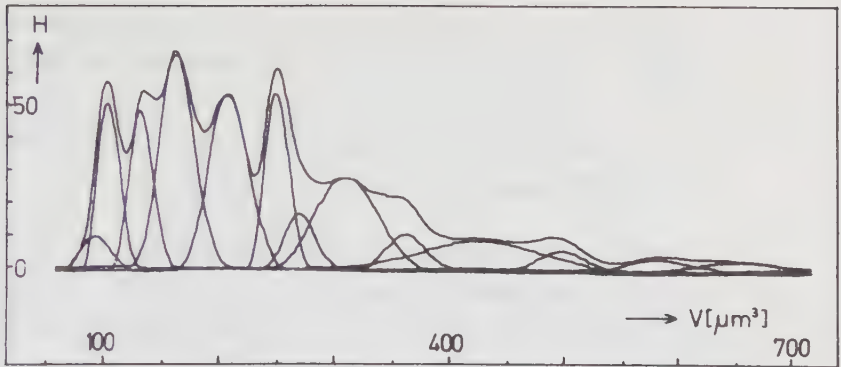


Diagramme 15 und 16: 2 h beschallte Ratte. Häufigkeitsverteilung der Kernvolumina von Ganglienzellen aus den rechten (Diagramm 15) sowie linken (Diagramm 16) Nuclei cochleares. Dargestellt sind die Gesamtpopulation (Umhüllende) der Kernvolumina und die sie zusammensetzenden normalverteilten Einzelkollektive.

durch entstehen Verteilungskurven, die die größten gemessenen Voluminawerte (Diagramm 32) sowie die maximalen Variationsbreiten aufweisen. All diese Faktoren tragen zur Erhöhung des rechten und linken arithmetischen Mittelwertes im Vergleich zum 1 h stimulierten Tier bei (Diagramm 1).

Erstmals nach zweistündiger Beschallung kommt es auf der linken Seite zu einer Reduktion der Teilkollektivanzahl von dreizehn auf elf, auf der rechten Seite dagegen setzen weiterhin dreizehn Einzelpopulationen die Gesamtpopulation zusammen. Die Einordnung der Teilkollektivmittelwerte in die geometrischen Folgen 1 und 2 gelingt mit einer durchschnittlichen Abweichung von 2,6 %, wobei die größte Einzelabweichung nur 5,6 % beträgt und bezeichnenderweise ein Teilkollektiv betrifft, das nach zweistündiger Stimulation neu aufgetreten ist. Überhaupt weisen alle Mittelwerte der Kernklassen V_{16} und $V_{16}\sqrt{2}$ beider geometrischer Folgen relativ große prozentuale Abweichungen auf, wohingegen die drei kleinsten Kollektivmittelwerte des 2 h gereizten Tieres nur ganz geringfügig von den Werten der geometrischen Folgen 1 und 2 abweichen. Im Vergleich hierzu zeichnen sich die entsprechenden Werte der 1 h beschallten Ratte durch die höchsten Abweichungsraten dieses Tieres aus. Weiterhin ist hervorzuheben, daß in der geometrischen Folge 1 des zweistündig stimulierten Tieres letztmalig zwei Voluminawerte einer Kernklasse zugeordnet wurden. Dagegen erscheinen in der geometrischen Folge 2 erstmalig zwei Voluminawerte in einer Kernklasse.

4.1.2.5. 4 h beschallte Ratte

Ähnliche Erscheinungen wie der Schritt von dreißigminütiger zu einstündiger Geräuscheinwirkung bewirkt der Übergang von zwei zu vier

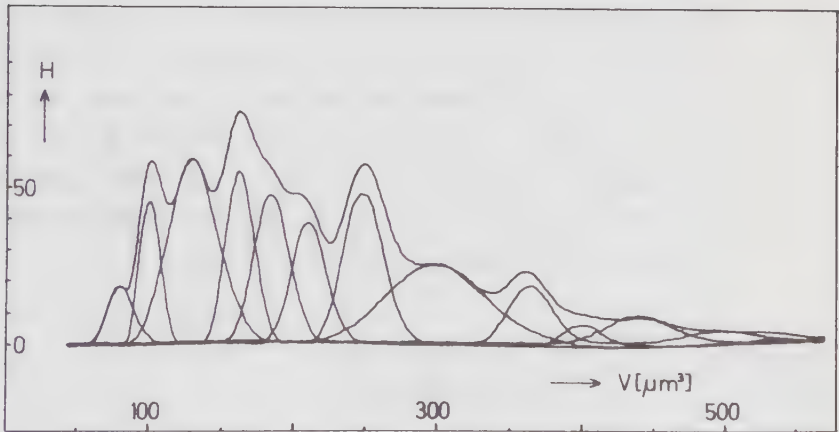
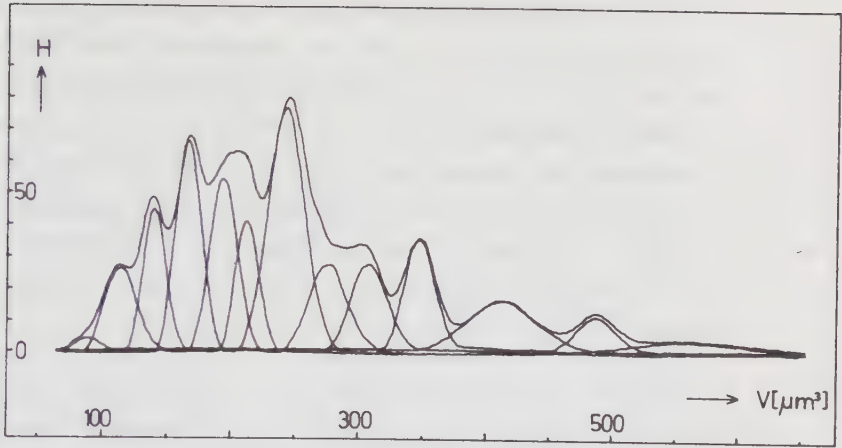


Diagramme 17 und 18: 4 h beschallte Ratte. Häufigkeitsverteilung der Kernvolumina von Ganglienzellen aus den rechten (Diagramm 17) sowie linken (Diagramm 18) Nuclei cochleares. Dargestellt sind die Gesamtpopulation (Umhüllende) der Kernvolumina und die sie zusammensetzenden normalverteilten Einzelkollektive.

Stunden Beschallungsdauer: Der Kurvenbeginn bleibt gleich (Diagramme 17, 18, 32), das Kurvenende verschiebt sich sogar zu kleineren Werten, so daß die Variationsbreite insgesamt abnimmt. Die Kurvenasymmetrie, ausgedrückt durch die Differenz zwischen absolutem Kurvenmaximum und arithmetischem Mittelwert, bleibt rechts gleich und wird links erheblich kleiner infolge einer gleichmäßigeren Verteilung der Voluminawerte, die vor allem durch eine Häufigkeitsverminderung kleiner Kernvolumina zugunsten mittelgroßer Nuclei zustandekommt.

Bei der Eingliederung der beidseitig dreizehn Teilkollektivmittelwerte in die geometrischen Folgen 1 und 2 (Tabellen 6, 7) fällt auf, daß bei der geometrischen Folge 1 in keinem Fall, bei der Folge 2 in vier Fällen je zwei Voluminawerte in einer Kernklasse auftreten, wobei sich sowohl die zwei kleineren als auch die zwei größeren Volumina der beiden rechts vorkommenden Wertepaare etwa wie 1 : 2, die entsprechenden Volumina der beiden linken Wertepaare etwa wie 1 : $\sqrt{2}$ verhalten. Die durchschnittliche Abweichungsrate der experimentell gefundenen von den theoretisch ermittelten Werten beträgt 2,8 % und liegt damit in der gleichen Größenordnung wie bei den ein- und zweistündig irritierten Tieren.

4.1.2.6. 8 h beschallte Ratte

Im Stimulationsintervall zwischen vier und acht Stunden Beschallungsdauer sind nur geringfügige Änderungen an den Häufigkeitsverteilungskurven erkennbar (Diagramme 19, 20, 32): Der Kurvenbeginn verlagert sich beidseitig von etwa $75 \mu\text{m}^3$ auf knapp $100 \mu\text{m}^3$, das Kurvenende bleibt rechts gleich und verschiebt sich links um $100 \mu\text{m}^3$ zu größeren Werten. Daraus erklärt sich die beidseitig relativ starke Zunahme der durchschnittlichen Kernvolumina (Diagramm 1) so-

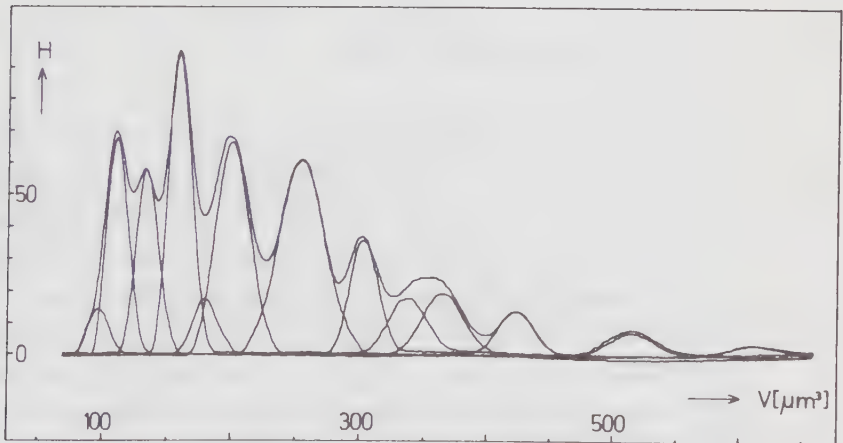
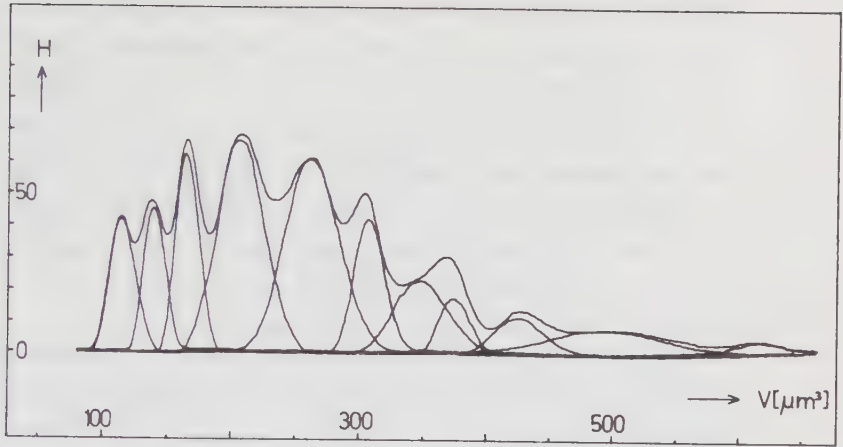


Diagramme 19 und 20: 8 h beschallte Ratte. Häufigkeitsverteilung der Kernvolumina von Ganglienzellen aus den rechten (Diagramm 19) sowie linken (Diagramm 20) Nuclei cochleares. Dargestellt sind die Gesamtpopulation (Umhüllende) der Kernvolumina und die sie zusammensetzenden normalverteilten Einzelkollektive.

wie die Vergrößerung der Variationsbreite. Auf der rechten Seite nähern sich die Werte des absoluten Kurvenmaximums ($V = 212 \mu\text{m}^3$) und des arithmetischen Mittelwertes ($V = 221 \mu\text{m}^3$) fast bis zur gegenseitigen Übereinstimmung, auf der linken Seite hingegen kommt es im Vergleich zum vier Stunden beschallten Tier zu einer Steigerung der Differenz zwischen absolutem Maximum und arithmetischem Mittelwert auf knapp $40 \mu\text{m}^3$ infolge des Auftretens großer Volumina-
werte in den linken Nuclei cochleares.

Bei dem Versuch, die elf rechtsseitig sowie die dreizehn linksseitig gelegenen Teilkollektivmittelwerte mit den Werten der beiden geometrischen Folgen zur Deckung zu bringen, ergibt sich mit 2 % eine ausgesprochen niedrige durchschnittliche Abweichungsrate.

4.1.2.7. 24 h beschallte Ratte

Bereits aus der Betrachtung der Kernvoluminamittelwerte (vgl. Kapitel 4.1.1.) ging die rückläufige Tendenz der reizungsinduzierten Veränderungen in der Zeitspanne zwischen 8- und 24-stündiger Beschallung hervor. Entsprechende Vorgänge sind aus den Häufigkeitsverteilungskurven der 24 h stimulierten Ratte (Diagramme 21, 22) im Vergleich zu den Kurven der kürzer beschallten Tiere (Diagramm 32) abzulesen: Das Kurvenende verschiebt sich beidseitig um etwa $100 \mu\text{m}^3$ zu kleineren Voluminawerten, woraus eine Verschmälerung der Variationsbreite und eine deutliche Abnahme des arithmetischen Mittelwertes (Diagramm 1) resultieren. In Fortsetzung der bereits im unmittelbar vorausgehenden Stimulationsintervall beobachteten Entwicklung ist die Kurvensymmetrie nach 24-stündiger Irritation auf der rechten Seite ideal (arithmetischer Mittelwert $195 \mu\text{m}^3$, absolutes Kurvenmaximum $195 \mu\text{m}^3$), während auf der linken Seite die Differenz zwischen arithmetischem Mittelwert ($V = 180 \mu\text{m}^3$) und absolutem Maximum ($V = 102 \mu\text{m}^3$) relativ groß ist.

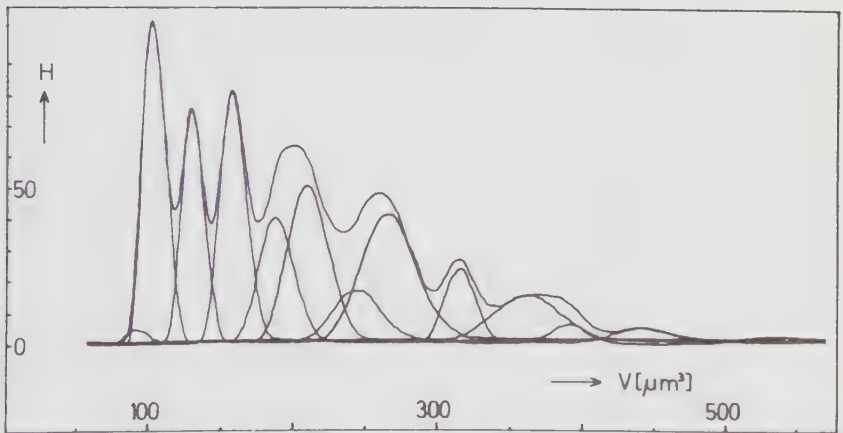
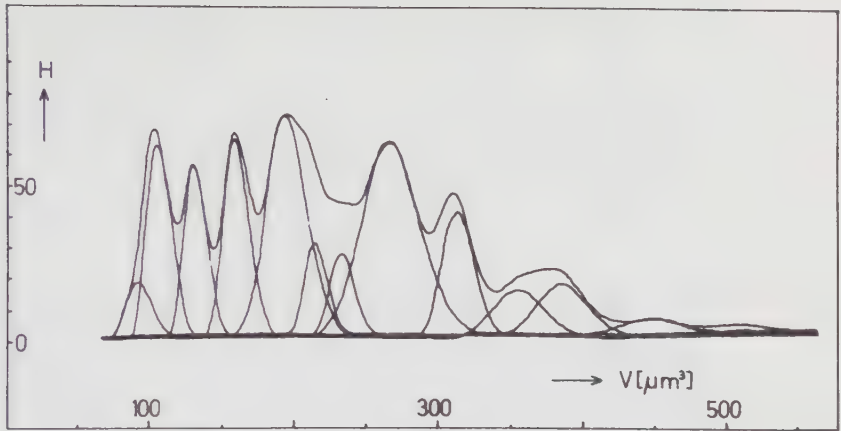


Diagramme 21 und 22: 24 h beschallte Ratte. Häufigkeitsverteilung der Kernvolumina von Ganglienzellen aus den rechten (Diagramm 21) sowie linken (Diagramm 22) Nuclei cochleares. Dargestellt sind die Gesamtpopulation (Umhüllende) der Kernvolumina und die sie zusammensetzenden normalverteilten Einzelkollektive.

	$v_1 \sqrt{2^0}$ v_1	$v_1 \sqrt{2^1}$ $v_1 \sqrt{2}$	$v_1 \sqrt{2^2}$ v_2	$v_1 \sqrt{2^3}$ $v_2 \sqrt{2}$	$v_1 \sqrt{2^4}$ v_4	$v_1 \sqrt{2^5}$ $v_4 \sqrt{2}$	$v_1 \sqrt{2^6}$ v_8	$v_1 \sqrt{2^7}$ $v_8 \sqrt{2}$	$v_1 \sqrt{2^8}$ v_{16}	$v_1 \sqrt{2^9}$ $v_{16} \sqrt{2}$
Theoret. Werte	27,5	38,8	55	77,5	110	155	220	310	440	620
re	-	-	58 (16)	79 (25)	106 (15)	-	-	-	-	-
Leer- vers.	-	-	58 (20,5)	78 (26)	107 (5)	162 (7)	-	-	-	-
0,5 h	re	-	-	79 (7)	122 (26)	160 (11)	213 (3,5)	289/311 (6) (1)	420 (2,3)	-
	li	-	58 (0,7)	-	122 (12)	160 (28)	213 (9,5)	289/311 (3) (1)	435 (0,5)	-
1 h	re	-	58 (6,5)	78 (8)	117 (7,5)	162 (17,5)	212 (17)	297/325 (6) (1)	437 (3)	-
	li	-	58 (2,5)	78 (6,5)	100 (15)	162 (10)	212 (13,5)	293/325 (4) (2)	437 (0,7)	-
2 h	re	-	-	-	107 (9)	160 (18)	212 (16)	310 (13)	430 (8,5)	585/640 (2) (3)
	li	-	-	-	107 (9,7)	162 (12)	212 (28)	308 (14)	425 (6,5)	600 (2,8)
4 h	re	-	-	-	110 (5,8)	162 (12,5)	215 (7,5)	310 (6,5)	420 (7,5)	-
	li	-	-	79 (3,5)	102 (6)	162 (10,5)	215 (9)	308 (17)	440 (3,5)	-
8 h	re	-	-	-	112 (7,8)	160 (10,1)	212 (22)	310 (8,6)	430 (3,5)	620 (0,8)
	li	-	-	-	112 (10,5)	160 (15,5)	212 (16,3)	310 (7)	430 (3,1)	618 (0,8)
24 h	re	-	-	-	110 (10)	160 (10)	217 (4)	312 (8)	450 (12)	-
	li	-	-	-	110 (16,5)	160 (13)	215 (13)	312 (6)	440 (2,5)	-

Tabelle 6: Teilkollektivmittelwerte der curve-resolver-Analyse (geometrische Folge 1). Zahlenangaben ohne Klammern: Volumina-
werte in μm^3 ; Zahlenangaben in Klammern: Flächenanteile der
Teilkollektive an der Gesamtkurve in %.

	$v_1 \sqrt{2^0}$ v_1	$v_1 \sqrt{2^1}$ $v_1 \sqrt{2}$	$v_1 \sqrt{2^2}$ v_2	$v_1 \sqrt{2^3}$ $v_2 \sqrt{2}$	$v_1 \sqrt{2^4}$ v_4	$v_1 \sqrt{2^5}$ $v_4 \sqrt{2}$	$v_1 \sqrt{2^6}$ v_8	$v_1 \sqrt{2^7}$ $v_8 \sqrt{2}$	$v_1 \sqrt{2^8}$ v_{16}	$v_1 \sqrt{2^9}$ $v_{16} \sqrt{2}$
Theoret. Werte	23,1	32,7	46,2	65,5	92,5	131	185	262	370	524
re Leer- vers.	23 (0,5)	32 (3,5)	45 (17)	66 (8)	-	136 (15)	-	-	-	-
li	-	32 (4)	45 (12,8)	-	99 (6)	127 (15,8)	187 (2,9)	-	-	-
0,5 h	re -	-	-	66 (2,5)	100 (12)	-	190 (12)	249 (12)	361 (3,5)	524 (1,2)
li	-	-	-	67 (1,7)	100 (20)	137 (3,5)	190 (10)	249 (9,5)	361 (0,6)	-
1 h	re -	-	-	-	100 (11,5)	134 (5)	-	257 (9)	367 (6,5)	515 (1,5)
li	-	-	-	-	90 (3,5)	127 (31)	185 (2,5)	253 (7)	367 (1,8)	-
2 h	re -	-	-	-	92 (2,5)	132 (9)	-	253/265 (10)(4)	362 (3)	500 (2)
li	-	-	-	-	-	132 (8,5)	-	250/265 (6)(2)	360 (7,7)	505 (2,8)
4 h	re -	-	-	-	92 (0,8)	135 (7,9)	192 (11)	249/270 (21)(7)	357 (7,5)	493/550 (3)(2)
li	-	-	-	-	-	132 (19,5)	185 (10)	255 (12)	365/400 (4)(2)	500/530 (2)(1)
8 h	re -	-	-	-	-	137 (7)	-	263 (22,1)	352/372 (9)(4)	505 (5,1)
li	-	-	-	-	93 (2,3)	135 (9,7)	185 (3,1)	263 (20)	345/370 (4)(5)	522 (2,7)
24 h	re -	-	-	-	93 (3)	135 (8)	193 (18)	238/267 (4)(22)	358/385 (5)(5)	518 (1)
li	-	-	-	-	93 (0,8)	135 (11)	192 (9,5)	248/265 (5)(14)	365/387 (7)(1)	525 (0,7)

Tabelle 7: Teilkollektivmittelwerte der curve-resolver-Analyse (geometrische Folge 2). Zahlenangaben ohne Klammern: Volumina-
werte in μm^3 ; Zahlenangaben in Klammern: Flächenanteile der
Teilkollektive an der Gesamtkurve in %.

Wie bei den meisten Verteilungskurven kürzer gereizter Tiere setzen dreizehn Teilkollektive die Gesamtpopulationen der am längsten beschallten Ratte zusammen, wobei sich die Teilkollektivmittelwerte beider Körperseiten kaum voneinander unterscheiden. Bei ihrer Einordnung in die theoretisch aufgestellten Folgen ergibt sich mit 2,3 % eine vergleichsweise geringe prozentuale Abweichung. Außerdem wurden den Kernklassen $V_8\sqrt{2}$ und V_{16} beider Seiten je zwei Werte zugeordnet, wobei auffallenderweise der theoretische Wert immer zwischen den beiden Werten eines Paares zu liegen kommt und sich die jeweils kleineren bzw. größeren Werte wie $1 : \sqrt{2}$ verhalten.

4.2. ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE BEFUNDE

Nach Abschluß der Untersuchungen über den karyometrisch erfaßbaren Beschallungseffekt an Nervenzellen der Nuclei cochleares wandten wir uns den beschallungsbedingten Veränderungen der Ultrastruktur von Neuronen in den Nuclei cochleares ventrales zu und kamen zu folgenden Ergebnissen:

4.2.1. Beschallungsbedingte Veränderungen am Nervenzellkern

Die Zellkerne unbeschallter Tiere zeigen typischerweise ein trüb-körniges Aussehen (Abbildung 4). Das teils granulär, teils filamentös imponierende Chromatin ist sehr regelmäßig im Kernraum verteilt und neigt kaum zur Bildung von Chromatinaggregationen, die sich, wenn sie auftreten, bevorzugt dem Nucleolus anlagern. Gegen das Cytoplasma wird der Kern durch eine häufig gewellte doppelte Kernmembran abgegrenzt. Gelegentlich weist sie fingerförmige Invaginationen (Abbildung 9) auf, die mit Ribosomen und vereinzelt mit cisternalen Elementen des rauhen und glatten endoplasmatischen Retikulum ausgefüllt sind. Die perinucleare Cisterne zwischen den beiden Membranen ist bei unbehandelten Ratten gleichmäßig schmal, sie zeigt keine lokalisierten Verbreiterungen und ist selten von Kernporen durchsetzt.

Nach Kurzzeitbeschallung ergeben sich an den Nervenzellkernen der Nuclei cochleares ventrales deutliche Veränderungen (Abbildungen 5, 6). Die Kernmatrix hellt sich stark auf, wodurch der Kern sein trüb-körniges Aussehen verliert. Gleichzeitig ändert sich das Verteilungsmuster des Chromatins: Es bilden sich Klumpen, die zwar im gesamten Kernraum verteilt liegen, bevorzugt jedoch der Kernmembran unter strenger Aussparung der Kernporen angelagert sind. Die be-

reits bei nicht stimulierten Nervenzellen beobachteten Einstülpungen der Kernmembran sind bei den kurzzeitbeschallten Tieren zahlreicher vorhanden und stärker eingebuchtet (Abbildung 5) als bei nicht stimulierten Neuronen. Abbildung 5 zeigt darüberhinaus eine gegenüber ungereizten Ganglienzellen (Abbildung 4) deutliche Verbreiterung der perinuclearen Cisterne. Allerdings werden verschiedene Stellen des intermembranösen Raums in unterschiedlichem Ausmaß von dieser Aufweitung betroffen. Daraus resultiert im Vergleich zu nicht stimulierten Zellen eine viel unregelmäßigere, perlschnurartige Kontur der perinuclearen Cisterne kurzzeitig gereizter Neurone.

Die strukturellen Veränderungen an den Nuclei langdauernd stimulierter Nervenzellen sind wesentlich schwächer ausgeprägt als bei kurzzeitig stimulierten Ganglienzellen. Sie beschränken sich auf geringfügige Matrixaufhellung, auf nur selten vorhandene Chromatinklumpenbildung (Abbildungen 14, 15), auf Kernporenvermehrung und -vergrößerung (Abbildungen 15, 28) sowie auf geringgradige Cisternenaufweitung (Abbildung 7), die allerdings - im Gegensatz zu den kurzzeitig gereizten Ganglienzellen - den gesamten intermembranösen Raum ziemlich gleichmäßig betrifft.

Neben diesen beschallungsbedingten Nucleusveränderungen ist das Auftreten tubulärer Kerneinschlüsse in den Nervenzellen des Nucleus cochlearis ventralis erwähnenswert. Wir fanden sie in zwei Gewebeschnitten einer unbeschallten sowie in fünf Gewebeschnitten der zweistündig (z.B. Abbildung 6) gereizten Ratte vor. Bei beiden Tieren kann nicht ausgeschlossen werden, daß es sich jeweils um denselben Zellkern handelt. Diese intranuclearen Gebilde stellen sich im elektronenoptischen Bild als Bündel zueinander paralleler Mikrotubuli und Mikrofilamente dar und dürften mit den von SOTELO und PALAY⁹⁸ (1968) im Nucleus vestibularis lateralis beschriebenen "nuclear inclusions type III" identisch sein. Über ihre Funktion ist bislang noch nichts Genaueres bekannt.

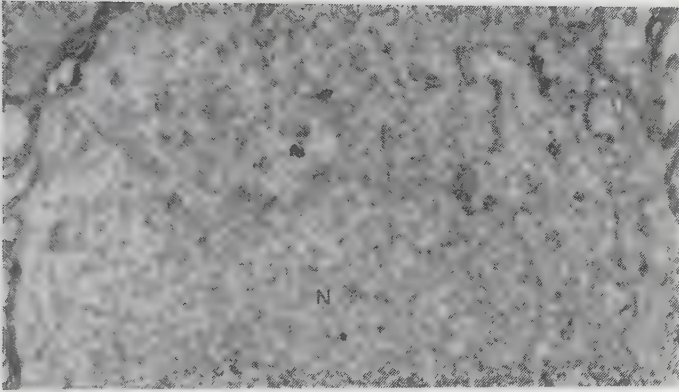


Abbildung 4: Das Bild ist zum größten Teil von einem für unbeschaltete Ratten typischen Nucleus (N) einer Nervenzelle im Nucleus cochlearis ventralis ausgefüllt: Er ist relativ elektronendicht, das granulär-filamentöse Chromatin ist gleichmäßig im Kernraum verteilt, die perinucleare Cisterne ist überall gleichmäßig schmal und kaum von Kernporen unterbrochen. M (Gesamtvergrößerung) = 18 000.

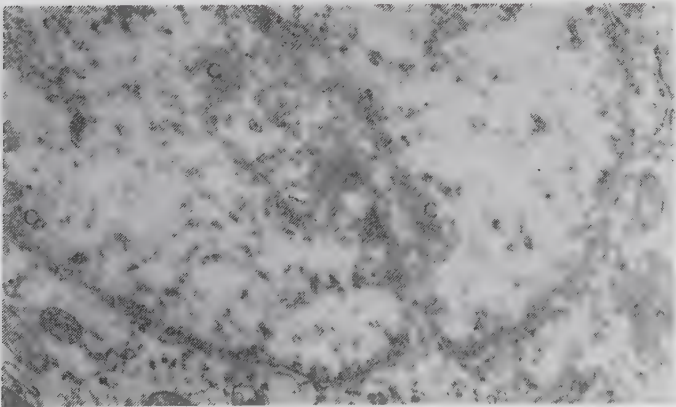


Abbildung 5: Sie zeigt den Ganglienzellkern eines 40 min gereizten Tieres, der durch eine stark aufgehellte Kernmatrix, durch klumpenförmig zusammengeballtes Chromatin (C), das bevorzugt in unmittelbarem Kontakt zur Kernmembran steht, und durch eine unregelmäßig aufgeweitete perinucleare Cisterne gekennzeichnet ist. M = 27 200.

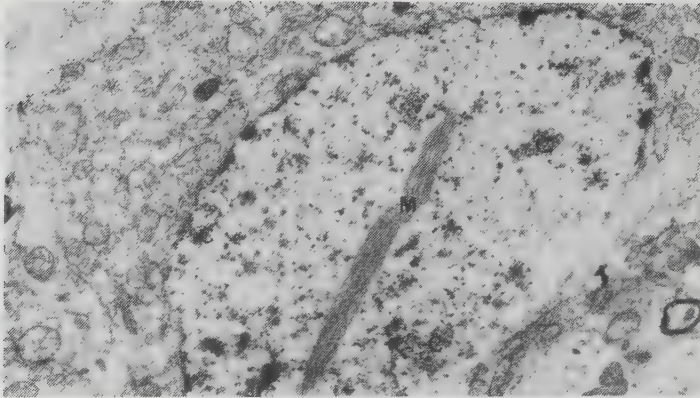


Abbildung 6: 2 h beschallte Ratte. In dieser Abbildung sticht das längsgeschnittene Bündel parallel zueinander liegender Mikrotubuli (M) im Innern des Nervenzellkerns ins Auge. Auffällig sind am Nucleus außerdem die für kurzbeschallte Tiere charakteristische Matrixaufhellung und Chromatinklumpenbildung (C) (vgl. Abbildung 5). M = 10 000.

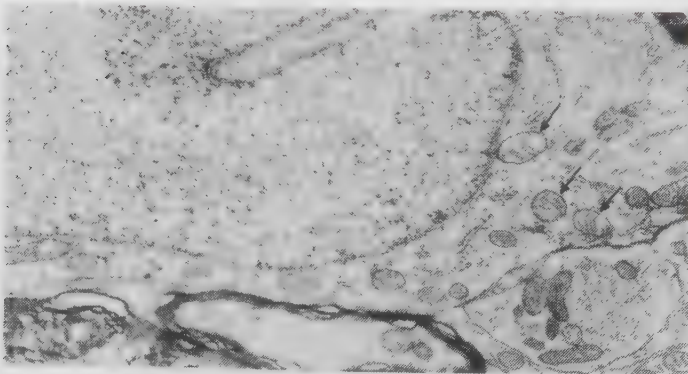


Abbildung 7: Nach Langzeitbeschallung (hier: 7,5 h) ähnelt das Zellkernbild aufgrund des gleichmäßig verteilten Chromatins sehr stark demjenigen unbeschallter Tiere (s. Abbildung 4). Die einzigen strukturellen Unterschiede liegen in der Kernmatrixaufhellung und geringfügigen Kernhüllenverbreiterung nach langdauernder Irritation. Hervorzuheben sind darüberhinaus die erheblich elektronendurchlässigeren Mitochondrien des Cytoplasma (→) im Vergleich zu denjenigen der präsynaptischen Endigung rechts unten. M = 21 000.

4.2.2. Beschallungsbedingte Veränderungen an den Strukturen des Nervenzellcytoplasma

4.2.2.1. GOLGI-Apparat

Die einzelnen GOLGI-Felder ungereizter Ganglienzellen (Abbildungen 9, 10) sind relativ klein und unauffällig. Sie bestehen aus kurzen, schmalen Cisternen, die in nicht gekrümmter Form parallel zueinander angeordnet sind, dicht beisammen liegen und nur von wenigen vesikulären Elementen umgeben sind.

Werden die Tiere kurzzeitig beschallt, so kommt es - ähnlich wie bei der perinuclearen Kernhülle - zu einer stellenweise enormen Aufweitung der intracisternalen Räume (Abbildung 11). Nach langdauernder Reizung weicht dieses Erweiterungsmuster der GOLGI-Apparat-Cisternen einer gleichmäßigen Verbreiterung geringeren Ausmaßes. Darüberhinaus werden die Cisternen länger und nehmen vermehrt gekrümmte Gestalt an (Abbildungen 14, 16). Einzelne Cisternenpakete schließen sich zu halbkreis- bis kreisförmigen Komplexen zusammen, in deren Zentrum gehäuft Vesikel und größere Vakuolen anzutreffen sind. Außerdem ergibt sich bereits aus dem qualitativen Vergleich langzeitstimulierter Neurone mit kurzdauernd und nicht gereizten Ganglienzellen eine Absolutvermehrung von GOLGI-Cisternen und GOLGI-Feldern.

In unmittelbarer GOLGI-Apparat-Nähe finden sich bei beschallten Ratten sehr oft multivesikuläre Körperchen (Abbildungen 11, 12, 13, 16, 18). Darüberhinaus sind diese jedoch auch im übrigen Cytoplasma (Abbildungen 16, 18), im Axoplasma (Abbildung 17) sowie in den präsynaptischen Endigungen (Abbildung 18) anzutreffen. Da die multivesikulären Körperchen bei den ungereizten Vergleichstieren einerseits viel seltener und andererseits kaum in räumlicher Beziehung zu cytoplasmatischen GOLGI-Zonen vorkommen, liegt die Vermu-

tung nahe, daß sie bei Nervenzellstimulation vermehrt im GOLGI-Apparat gebildet werden, sich dann von ihm entfernen, um ihre Funktion in der gereizten Nervenzelle zu übernehmen. Eine Bestätigung dieser Entstehungshypothese multivesikulärer Körperchen aus dem GOLGI-Apparat bietet unseres Erachtens Abbildung 13, in der die teilweise Umhüllung einer Vesikelansammlung durch eine einfache Einheitsmembran in der Konkavität einer GOLGI-Zone zu erkennen ist.

4.2.2.2. Cisternen des rauhen endoplasmatischen Retikulum

Ähnliche reizungsbedingte Veränderungen wie an den GOLGI-Apparat-Cisternen zeigen sich bei qualitativer Betrachtung auch an den Cisternen des rauhen endoplasmatischen Retikulum (ER). Dabei werden die in ungereiztem Zustand kurzen, schmalen und spärlich vorhandenen Cisternen des rauhen ER (Abbildungen 8, 9) nach Kurzzeitbeschallung erheblich aufgeweitet (Abbildungen 10, 11, 13). Darüberhinaus erhöht sich ihre Anzahl in den Nervenzellen. Stimuliert man die Ganglienzellen über einen längeren Zeitraum hinweg, so nimmt die Dicke einzelner Cisternen zugunsten stärkerer Streckung und Längenzunahme deutlich ab (Abbildungen 14, 15, 16). Weiterhin ordnen sich die meisten cisternalen Elemente des rauhen ER parallel zueinander in hochgeordneter Stapelformation an (Abbildung 15).

Genauere Aussagen über die beschallungsinduzierten Veränderungen an den Cisternen des rauhen ER lassen sich aus den Ergebnissen der morphometrisch-quantitativen Cisternenauswertung (Tabelle 8, Diagramm 23) ableiten: Kurzdauernde Beschallung verursacht einen hochsignifikanten Anstieg der relativen Cisternenfläche, der Cisternenanzahl pro μm^2 sowie der Einzelcisternenfläche. Dabei setzt sich die etwa sechsfache Vergrößerung der relativen Cisternenfläche zur einen Hälfte aus der Erhöhung der Cisternenanzahl pro μm^2 , zur an-

	RCA [%]	$\frac{N}{A} \left[\frac{1}{\mu m^2} \right]$	CA [μm^2]
Unbe- schallt	M = 0,64 s = 0,44 N = 27	M = 1,06 s = 0,72 N = 27	M = $0,60 \cdot 10^{-2}$ s = $0,42 \cdot 10^{-2}$ N = 27
Kurzbe- schallt	++ M = 3,66 s = 1,31 N = 27	++ M = 2,09 s = 1,44 N = 27	++ M = $1,76 \cdot 10^{-2}$ s = $1,40 \cdot 10^{-2}$ N = 27
Langbe- schallt	M = 3,79 s = 0,71 N = 22	M = 2,21 s = 0,65 N = 22	M = $1,73 \cdot 10^{-2}$ s = $0,50 \cdot 10^{-2}$ N = 22

Tabelle 8: Morphometrische Daten der Cisternen des rauhen ER. M = Arithmetischer Mittelwert; s = dazugehörige Standardabweichung; N = Anzahl der Einzelwerte; RCA [%] = Relative Cisternenfläche in %; $N/A [1/(\mu m^2)]$ = Cisternenanzahl pro μm^2 ; CA = Einzelsisternenfläche in μm^2 ; ++ Statistisch hochsignifikante Differenz der Mittelwerte ($2 P < 0,001$).

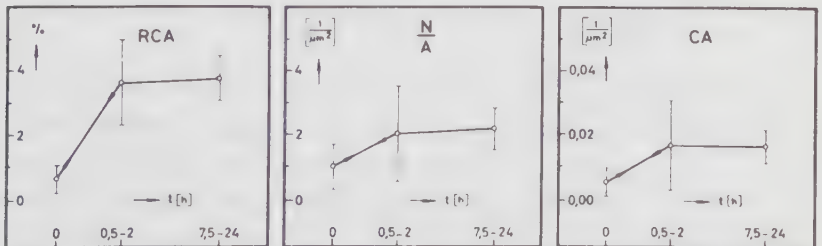


Diagramm 23 (vgl. Tabelle 8): Einfluß der Beschallungszeit (Abszissen) auf die morphometrisch ausgewerteten Parameter der Cisternen des rauhen ER (Ordinaten): auf die relative Cisternenfläche (RCA), auf die Cisternenanzahl pro Flächeneinheit (N/A) sowie auf die Einzelsisternenfläche (CA); $\longleftrightarrow$ Statistische Signifikanz der Mittelwertdifferenzen ($2 P < 0,01$).

deren Hälfte aus der Zunahme der Einzelcisternenfläche zusammen. Das bedeutet, daß es zusätzlich zur erheblichen Vergrößerung der bereits existenten Cisternen zu einer nicht unbedeutenden Absolutvermehrung von Cisternen des rauhen ER kommt. Nach langdauernder Schallreizung ändert sich keine der genannten Größen in statistisch signifikanter Weise, obwohl die oben dargestellten qualitativen Befunde sehr wohl Veränderungen in der Cisternengestalt erkennen lassen.

4.2.2.3. Ribosomen

Wie die reizungsbedingten Veränderungen an den Cisternen des rauhen ER erwarten lassen, hat Nervenzellstimulation auch einen deutlichen Einfluß auf die Verteilung der einzelnen ribosomalen Funktionsformen. Bei unbeschallten Ratten sind die Ribosomen einzeln (Monosomen) oder in Gruppen (Polysomen) vorwiegend frei im Cytoplasma verteilt (Abbildung 9) und lagern sich - wie aus Abbildung 8 zu ersehen ist - in manchen Zellen zu riesigen Haufen zusammen. Weniger als 10 % aller Ribosomen liegen in nicht stimulierten Zellen in membrangebundener Form vor.

Nach kurzzeitiger Schallreizung kommt es bei gleichbleibender Gesamttribosomenzahl pro μm^2 zu einer Umverteilung der Ribosomen: Der prozentuale Anteil membrangebundener Ribosomen steigt auf über 20 % an zu Lasten der frei im Cytoplasma verteilten Mono- und Polysomen (Tabelle 9, Diagramm 24). Gleichzeitig vergrößert sich sowohl die Anzahl der ein Polysom zusammensetzenden Ribosomen von durchschnittlich 3,90 auf 4,31 als auch die zugehörige Standardabweichung infolge des Auftretens hoher Ribosomenzahlen (bis zu 7 und 8) pro Polysom.

	Unbe- schallt	Kurzbe- schallt	Langbe- schallt
TR $\left[\frac{1}{\mu\text{m}^2}\right]$	M = 205,40 s = 127,36 N = 250	M = 204,19 s = 121,31 N = 542	M = 241,86 s = 127,19 N = 276
MR [%]	M = 8,40 s = 9,78 N = 250	M = 21,29 s = 12,15 N = 542	M = 22,97 s = 11,70 N = 276
FM [%]	M = 20,50 s = 8,53 N = 250	M = 15,94 s = 10,10 N = 542	M = 17,28 s = 11,62 N = 276
FP [%]	M = 70,79 s = 11,50 N = 250	M = 62,77 s = 13,35 N = 542	M = 58,65 s = 14,89 N = 276
$\frac{N}{\text{POLY}}$	M = 3,90 s = 0,80 N = 1710	M = 4,31 s = 0,99 N = 2385	M = 4,76 s = 1,05 N = 1797

Tabelle 9: Morphometrische Daten der Ribosomen. M = Arithmetischer Mittelwert; s = dazugehörige Standardabweichung; N = Anzahl der Einzelwerte; TR $[1/(\mu\text{m}^2)]$ = Gesamttribosomenzahl pro μm^2 ; MR [%] = Prozentualer Anteil membrangebundener Ribosomen an TR; FM [%] = Prozentualer Anteil freier Monosomen an TR; FP [%] = Prozentualer Anteil freier Polysomen an TR; N/POLY = Anzahl der ein Polysom zusammensetzenden Ribosomen; ++ Statistisch hochsignifikante Differenz der Mittelwerte (2 P < 0,001).

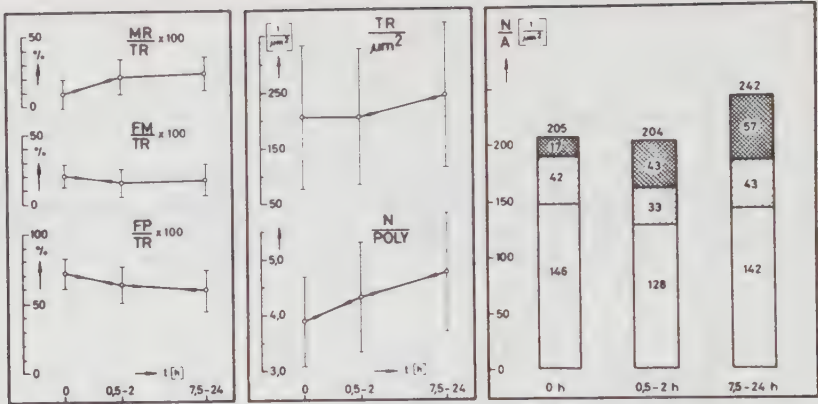


Diagramm 24 (vgl. Tabelle 9): Einfluß der Beschallungszeit (Abszissen) auf die Ribosomenverteilung. Auf den Ordinaten sind aufgetragen: $MR/(TR) \cdot 100$ = Prozentualer Anteil membrangebundener Ribosomen an TR (Gesamtribosomenzahl) pro μm^2 ; $FM/(TR) \cdot 100$ = Prozentualer Anteil freier Monosomen an TR pro μm^2 ; $FP/(TR) \cdot 100$ = Prozentualer Anteil freier Polysomen an TR pro μm^2 ; $TR/(\mu m^2)$ = Gesamtribosomenzahl pro μm^2 ; $N/POLY$ = Anzahl der ein Polysom zusammensetzenden Ribosomen; N/A = Absolutzahlen freier Polysomen $\square$, freier Monosomen hatched , membrangebundener Ribosomen cross-hatched pro μm^2 ; $\rightarrow \leftarrow$ Statistische Signifikanz der Mittelwertdifferenzen ($2 P < 0,01$).

Im Verlauf langzeitiger Beschallung bleibt die Relation der freien Mono- und Polysomen und der membrangebundenen Ribosomen zueinander im großen und ganzen konstant, die Absolutzahlen pro μm^2 nehmen jedoch infolge einer hochsignifikanten Erhöhung der Gesamtribosomenzahl um 17 % erheblich zu (vgl. Diagramm 24). Darüberhinaus steigt die Ribosomenzahl pro Polysom nach langdauernder Nervenzellirritation weiter auf 4,76 an.

Diese morphometrisch ermittelte relative und absolute Zunahme membrangebundener Ribosomen nach Beschallung tritt auch bei qualitativem Vergleich von Cytoplasmaausschnitten unbeschallter Tiere (Ab-

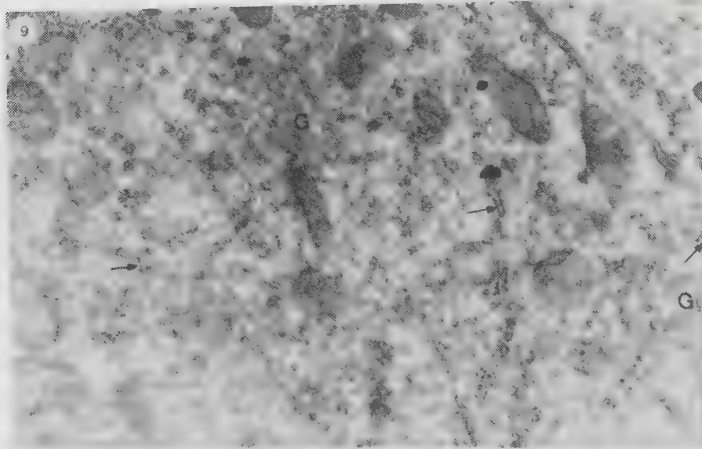
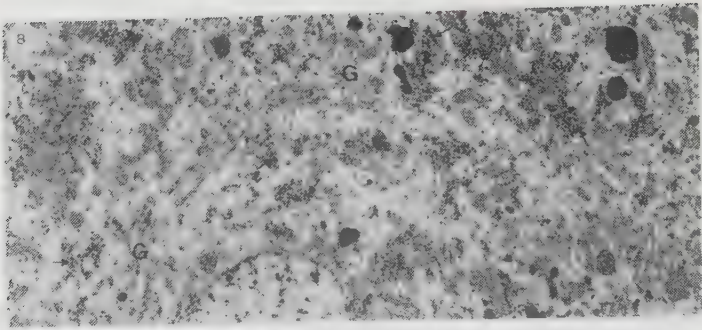
bildungen 8, 9) mit denjenigen kurz- (Abbildungen 12, 13) und langdauernd gereizter (Abbildungen 14, 15, 16) Ratten in Erscheinung.

4.2.2.4. Mitochondrien

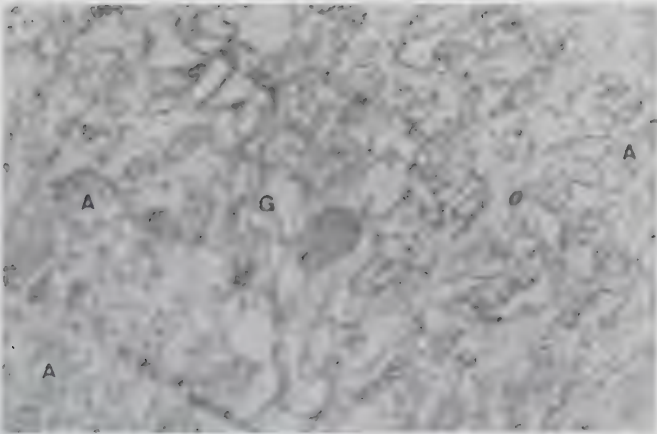
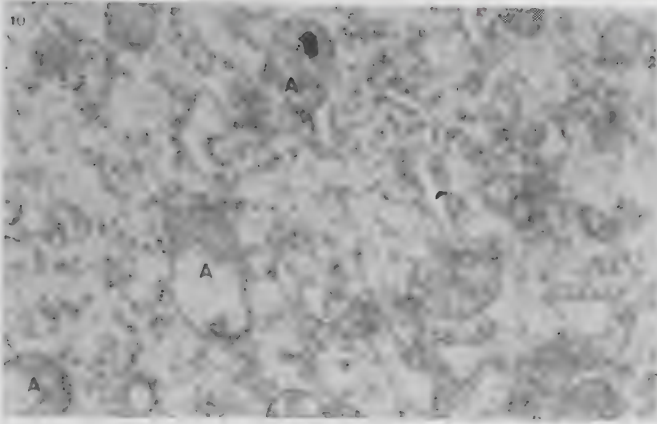
In unbelasteten Nervenzellen der Nuclei cochleares ventrales stellen sich die Mitochondrien als runde bis längliche Organellen dar, die regelmäßig von engen quer- bis längsgestellten Cristae durchzogen werden und deren intercrystal gelegene homogene Matrix deutlich elektronendichter ist als das umliegende Grundcytoplasma (Abbildung 9).

Werden die Tiere kurzzeitig dem Beschallungsreiz ausgesetzt, so kommt es in den Mitochondrien der Perikarya und Dendriten zur Vakuolenbildung. Diese führt einerseits zur deutlichen Aufweitung der intracristalen Räume, andererseits zur erheblichen Aufhellung der Mitochondrienmatrix sowie zur Verdrängung der Cristae bis zur Cristolyse am Rand großer intercrystal gelegener Vakuolen (Abbildungen 10, 11, 13). Im Gegensatz hierzu zeigen die axonal und präsynaptisch gelegenen Mitochondrien bis auf eine schwache Aufhellung der Matrix und eine geringfügige Erweiterung der intracristalen Räume keine morphologischen Veränderungen (Abbildungen 7, 22, 23).

Nach langdauernder Beschallung unterscheidet sich die mitochondriale Struktur kaum von derjenigen ungereizter Tiere: Die Mitochondrienmatrix imponiert etwas elektronendurchlässiger als in nicht stimulierten Neuronen, die intracristalen Räume sind im Vergleich zu denen ungereizter Ganglienzellen leicht aufgeweitet (Abbildungen 15, 16). Anders als bei den Mitochondrien kurzzeitig stimulierter Ratten kommt es nach Langzeitbeschallung nicht mehr zur intra- oder intercrystalen Vakuolenbildung.



Abbildungen 8 und 9: Die hier abgebildeten Nervenzellausschnitte entstammen zwei verschiedenen unbeschallten Ratten und zeigen die Cytoplasmastruktur ungereizter Neurone: Die Cisternen der GOLGI-Zonen (G) sind kurz, gestreckt und in Stapelform angeordnet; die NISSL-Substanz besteht fast ausschließlich aus freien, teils in riesigen Haufen zusammen-
gelagerten Mono- und Polysomen und nur aus wenigen ribosomenbesetzten Cisternen (→); die Mitochondrienmatrix ist dunkel, die Cristae sind schmal und liegen teils parallel, teils senkrecht zur Mitochondrienlängsachse. M = 9 000 (Abbildung 8) bzw. M = 32 000 (Abbildung 9).



Abbildungen 10 und 11: Beide Bilder lassen die typischen Veränderungen im Nervenzellcytoplasma nach kurzdauernder Stimulation (Abbildung 10: 40 min; Abbildung 11: 2 h) erkennen: Die Cisternen der GOLGI-Zone (G) und des rauhen ER sind enorm aufgeweitet bei gleichzeitiger Absolutzunahme der Cisternen des rauhen ER; in den Mitochondrien (A) bilden sich intra- und intercristal Vakuolen, die teilweise sogar zur Cristolyse führen. M = 32 000 (Abbildung 10) bzw. M = 23 400 (Abbildung 11).

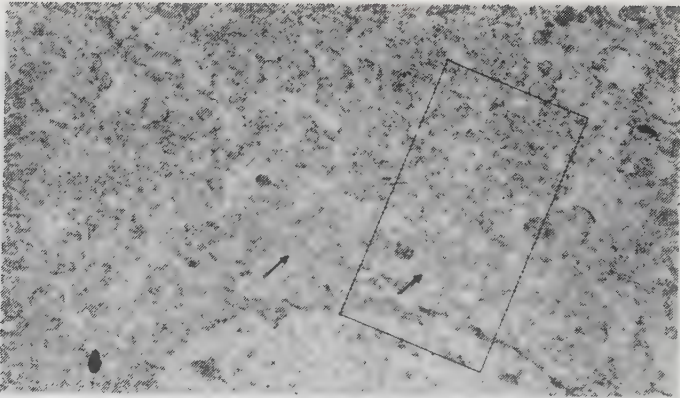


Abbildung 12: 2 h gereizte Ratte. Ein weiteres Beispiel der in den Abbildungen 10 und 11 bereits dargestellten Veränderungen im Nervenzellcytoplasma nach Kurzzeitbeschallung bietet die obenstehende Abbildung. Darüberhinaus fällt die bereits beginnende Streckung und Stapelbildung der Cisternen des rauen ER und das Vorhandensein multivesikulärer Körperchen (→) in GOLGI-Apparat-Nähe auf. M = 12 000.

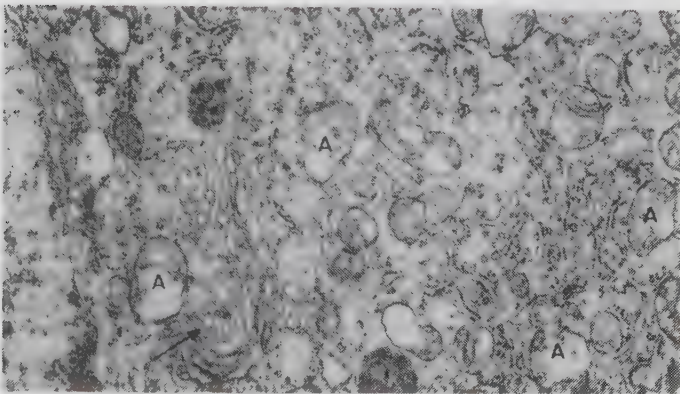


Abbildung 13: Dieses Bild, ein Ausschnitt aus Abbildung 12, zeigt in der linken Bildhälfte eine GOLGI-Zone mit Vesikelansammlungen zwischen den einzelnen Cisternen sowie in der Konkavität des gekrümmten unteren Pols (→). Letztere ist unten von einer gut erkennbaren Membran, oben nur angedeutet von einer membranösen Struktur umgeben. Die Vermutung liegt nahe, daß dieses multivesikuläre Körperchen aus dem GOLGI-Bereich abgeschnürt wird. A = vakuolisierte Mitochondrien. M = 28 000.

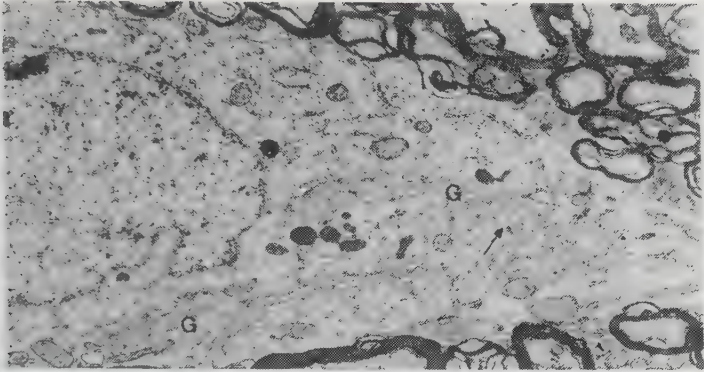


Abbildung 14: Die Abbildung läßt einen Neuronausschnitt der 7,5 h beschallten Ratte mit typisch strukturiertem Kern (s. Abbildung 7) und einem riesigen GOLGI-Apparat (G) mit langgestreckten, geringfügig erweiterten Cisternen erkennen. Der Pfeil weist - wie in Abbildung 13 - auf eine Stelle hin, in der ein multivesikuläres Körperchen abgeschnürt wird. Hervorzuheben sind außerdem die länglichen, dicht mit Ribosomen besetzten Cisternen des rauhen ER. M = 15000.

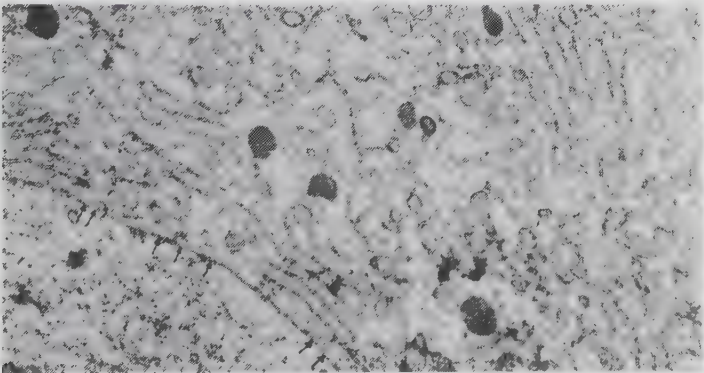
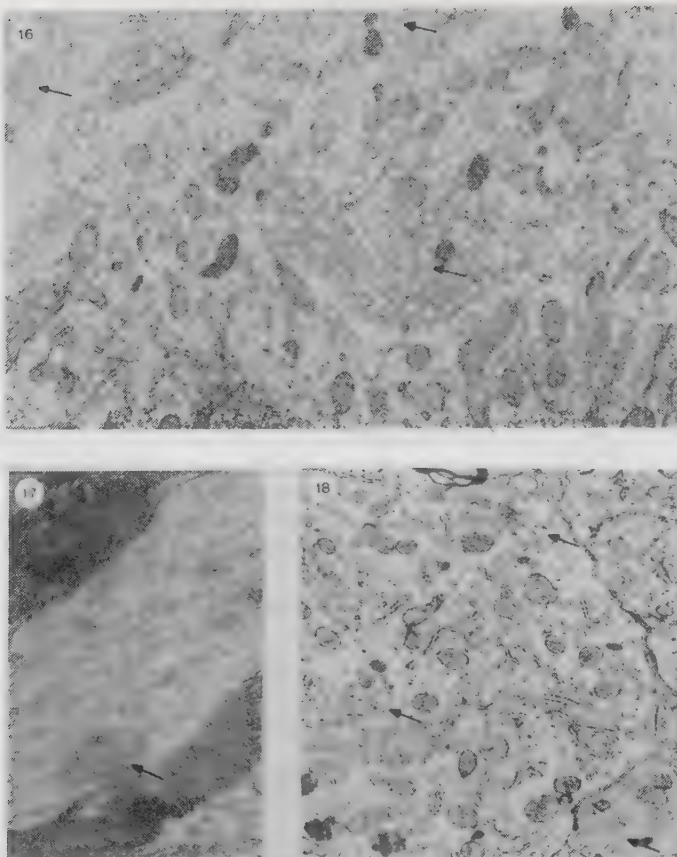


Abbildung 15: Ergänzend zu Abbildung 14 zeigt dieses Bild die für langzeitstimulierte (hier: 7,5 h) Tiere charakteristische parallele, stapelförmige Anordnung der langgestreckten, dicht mit Ribosomen besetzten Cisternen des rauhen ER. Die Mitochondrienmatrix imponiert im Vergleich zu derjenigen unbeschallter Tiere heller, die Cristae erscheinen etwas erweitert. An der Kernhülle fallen - wie in Abbildung 28 - die relativ zahlreichen Kernporen auf (Pfeile). M = 18000.



Abbildungen 16, 17 und 18: In den drei Abbildungen sollen die unterschiedlichen Lokalisationen multivesikulärer Körperchen (→) am Beispiel langzeitgereizter Tiere dargestellt werden. Am häufigsten sind die multivesikulären Körperchen in unmittelbarer GOLGI-Zonen-Nähe (Abbildungen 16, 18), gelegentlich sogar in direktem Kontakt mit GOLGI-Cisternen (vgl. Abbildungen 13, 14) zu finden. Darüberhinaus liegen sie relativ häufig ohne Beziehung zum GOLGI-Apparat im Cytoplasma verstreut (Abbildungen 16, 18). Die Abbildungen 17 und 18 lassen außerdem erkennen, daß sie auch in Axonen und präsynaptischen Endigungen anzutreffen sind. In all den genannten Lokalisationen kommen sie nach Ganglienzellstimulation vermehrt vor. M = 20 300 (Abbildung 16) bzw. M = 57 000 (Abbildung 17) bzw. M = 18 000 (Abbildung 18).

Die Tatsache, daß bei allen Versuchstieren weder die Mitochondrien in den Axonen und präsynaptischen Endigungen noch diejenigen in den Gliazellen erhebliche Strukturveränderungen aufweisen, kann als Beweis dafür angesehen werden, daß die oben beschriebenen mitochondrialen Beschallungsreaktionen in den Perikarya und Dendriten keine Fixationsartefakte sind.

4.2.3. Beschallungsbedingte Veränderungen an den Strukturen der präsynaptischen Endigungen

Wie bereits im elektronenmikroskopischen Teil des Kapitels "Material und Methode" dargelegt wurde, unterteilten wir die im Nucleus cochlearis ventralis vorhandenen präsynaptischen Endigungen in vier Typen: in die rund- und ovalvesikulären Calyxfortsätze sowie die rund- und ovalvesikulären Boutons terminaux. Eine genaue Beschreibung der einzelnen Endigungsformen findet sich im Kapitel 3.2.3.3.. Darüberhinaus ergibt sich bereits aus der qualitativen Betrachtung der Abbildungen 19, 20 und 21, daß zwischen Boutons und "Calyces" ungereizter Tiere erhebliche Unterschiede der Vesikelfüllung bestehen. Dies schlägt sich in den morphometrischen Daten (Tabellen 11, 12, Diagramm 25) als hochsignifikant größere relative Vesikelfläche sowie als hochsignifikant höhere Vesikelzahl pro μm^2 in den boutonförmigen Endigungen nieder. Dieselben Verhältnisse treffen für kurzzeitig beschallte, nicht jedoch für langdauernd gereizte Tiere zu. Im Gegensatz zu den Boutons und "Calyces" treten zwischen ihren Untergruppen, die durch verschieden geformte Vesikel charakterisiert sind, in keiner Beschallungsstufe unterschiedliche Grade der Vesikelfüllung zutage.

Ebenso lassen die Werte der relativen Mitochondrienfläche (Tabelle 10, Diagramm 25) - mit einer Ausnahme - keine signifikanten Unter-

schiede zwischen rund- und ovalvesikulären Calyxfortsätzen bzw. zwischen rund- und ovalvesikulären Boutons terminaux erkennen. Daraus geht hervor, daß Synapsenarten ("Calyces" bzw. Boutons), die bei Aldehydfixierung verschieden geformte (runde bzw. ovale) Vesikel enthalten, in jeder Beschallungsstufe im gleichen Ausmaß mit Mitochondrien angefüllt sind. Werden jedoch rund- und ovalvesikuläre Boutons bzw. rund- und ovalvesikuläre "Calyces" zu je einer Gruppe zusammengefaßt, so ergibt sich bei unbeschallten Tieren eine hochsignifikante, bei kurzdauernd gereizten eine signifikante und bei langfristig stimulierten Ratten keine signifikante Differenz der relativen Mitochondrienfläche. In allen Fällen ist die Mitochondrienfüllung der Calyxfortsätze größer als diejenige der Boutons.

Ähnlich dem morphologischen Erscheinungsbild präsynaptisch gelegener Mitochondrien (Kapitel 4.2.1.5.) läßt auch die quantitativ erfaßte relative Mitochondrienfläche in den präsynaptischen Endigungen keine beschallungsbedingten Veränderungen erkennen (Tabelle 10, Diagramm 25). Dies trifft ohne Ausnahme für alle vier Synapsentypen zu.

Anders hingegen verhalten sich die Werte der relativen Vesikelfläche und der Vesikelzahl pro μm^2 (Tabellen 11, 12, Diagramm 25). Sie fallen bei den rund- und ovalvesikulären Calyxfortsätzen nach kurzzeitiger Stimulation um etwa zwei Drittel, bei den rund- und ovalvesikulären Boutons um ein Drittel ihres Ausgangswertes ab. Bei längerer Beschallung steigen die relative Vesikelfläche und die Vesikelzahl pro μm^2 in den "Calyces" hochsignifikant auf etwa zwei Drittel der ursprünglichen Werte an, in den Boutons hingegen sinken sie weiterhin auf circa die Hälfte der Ausgangswerte ab.

Eine genaue Aufschlüsselung der Ergebnisse nach Stimulationszeiten, wie sie im Diagramm 26 dargestellt ist, erlaubt zusätzlich detailliertere Aussagen über den Verlauf der Vesikelfüllung im Zuge der

Beschallung: Sie sinkt in den "Calyces" sowohl nach vierzig- als auch nach sechzigminütiger Reizung hochsignifikant ab, bleibt dann gleich und steigt in dem Zeitraum zwischen 2- und 7,5-stündiger Nervenzellirritation wieder an, um sich bei noch längerdauernder Reizung nicht mehr zu verändern. Im Gegensatz hierzu nehmen die Werte der relativen Vesikelfläche und der Vesikelzahl pro Flächeneinheit in den boutonförmigen Endigungen während ein- bis zweistündiger Beschallung allmählich ab und halten sich im weiteren Verlauf auf diesem Niveau.

Aus diesen Befunden, die in den Diagrammen 25 und 26 zusammengefaßt sind, geht deutlich hervor, daß sich die Werte der relativen Vesikelfläche und der Vesikelzahl pro μm^2 stets parallel zueinander verändern. Daraus wiederum läßt sich ableiten, daß die Einzelvesikelfläche nach Nervenzellreizung konstant bleibt, da die relative Vesikelfläche in % als das Hundertfache des Produkts aus Vesikelzahl pro Flächeneinheit und Einzelvesikelfläche definiert ist.

Ergänzend zu diesen quantitativen Befunden ist hervorzuheben, daß mit steigender Beschallungszeit vermehrt Vakuolen und Tubuli in den präsynaptischen Endigungen zu finden sind. Sie werden von einer glatten Einheitsmembran begrenzt und erscheinen elektronenoptisch meist leer (Abbildungen 22, 23, 25, 27, 28). Darüberhinaus werden große runde vesikuläre Gebilde mit elektronendichtem Zentrum ("dense core vesicles") beobachtet (Abbildungen 19, 21, 26), und zwar bevorzugt in den Boutons der Nuclei cochleares ventrales. Sie liegen einzeln zwischen den kleineren, runden oder ovalen synaptischen Vesikeln und nehmen in ihrer Häufigkeit nach Nervenzellreizung allem Anschein nach weder zu noch ab.

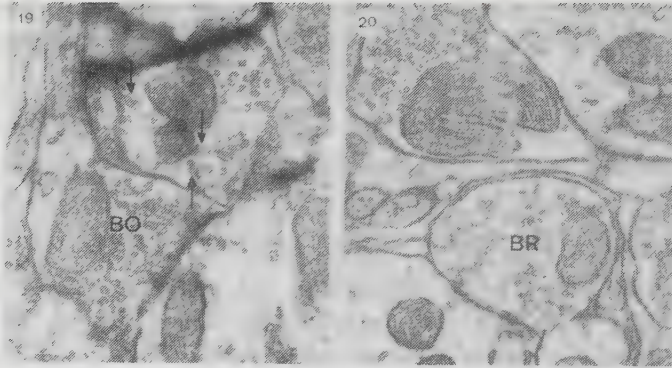


Abbildung 19: Das linke Bild läßt einen typischen Bouton terminal (BO) eines unbeschallten Tieres erkennen, der in dichter Packung überwiegend ovale Vesikel enthält. In der benachbarten präsynaptischen Endigung fallen einige, durch Pfeile gekennzeichnete "dense core vesicles" ins Auge. M = 44 000.

Abbildung 20: Das rechte Bild zeigt einen rundvesikulären Bouton terminal (BR) einer unbeschallten Ratte. M = 39 000.

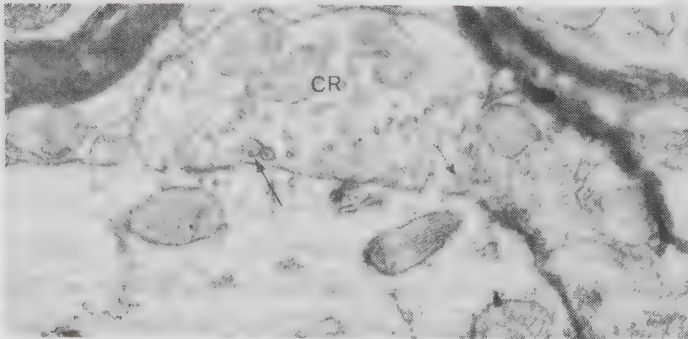
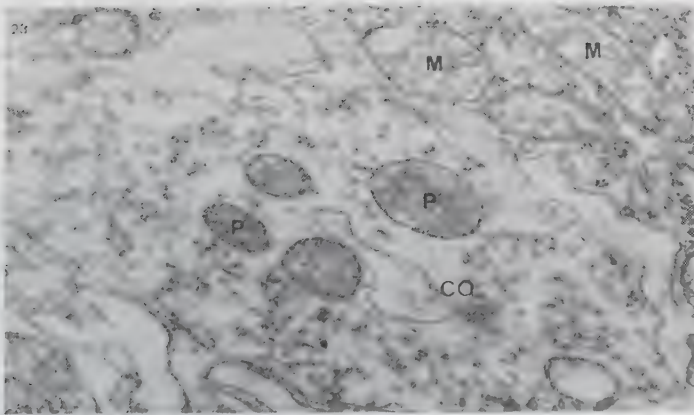
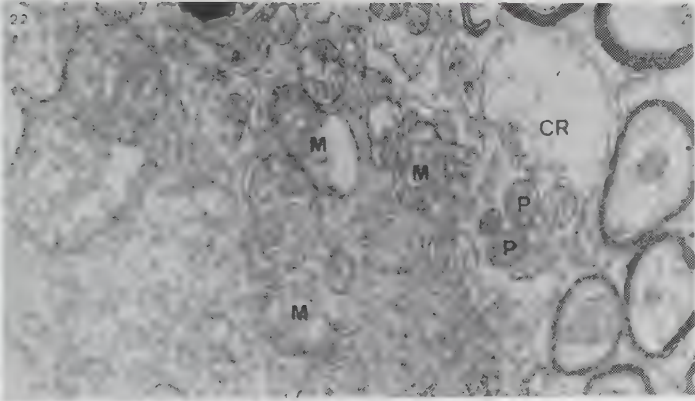
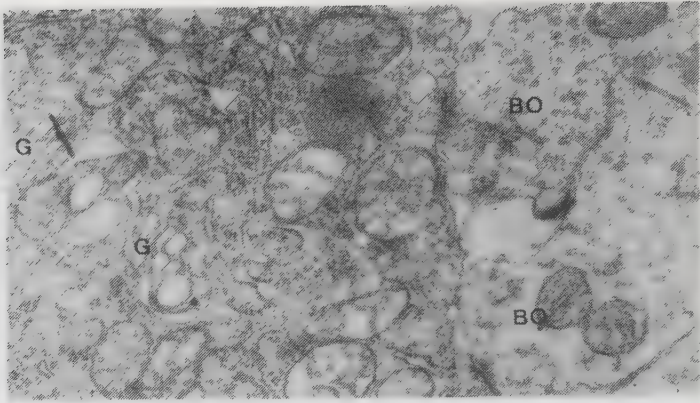


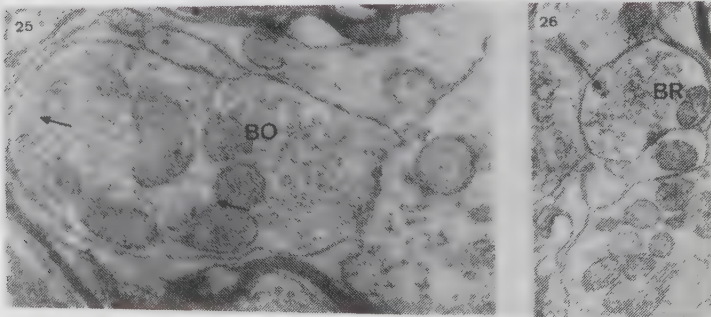
Abbildung 21: In Bildmitte ist ein Calyxfortsatz eines ungereizten Tieres mit locker angeordneten runden Vesikeln (CR) zu sehen. Charakteristisch für ihn sind seine längliche Gestalt und die Unterbrechung seiner synaptischen Kontaktfläche durch einen erweiterten Extrazellulärraum, in den Gliazellfortsätze einstrahlen ($\rightarrow$). Im angrenzenden präsynaptischen Element findet sich ein "dense core vesicle" ($\cdots\blacktriangleright$). M = 38 500.



Abbildungen 22 und 23: Nach Kurzzeitbeschallung (hier: 2 h) kommt es zu einer erheblichen Vesikelentleerung in den rund- (CR, Abbildung 22) und ovalvesikulären (CO, Abbildung 23) Calyxfortsätzen. Darüberhinaus tritt in beiden Bildern die gute Struktur-erhaltung der präsynaptischen (P) Mitochondrien im Vergleich zu den massiv veränderten cytoplasmatischen (M) Mitochondrien (Matrixaufhellung, Vakuolenbildung, stellenweise Cristololyse) zutage. M = 21000 (Abbildung 22) bzw. M = 42000 (Abbildung 23).



Abbildungung 24: In dieser Abbildung wird die starke Vesikelentleerung nach zweistündiger Schallreizung am Beispiel zweier ovalvesikulärer Boutons (BO) deutlich. Außerdem fallen die unterschiedlich strukturierten Mitochondrien in den prä- und postsynaptischen Elementen auf (vgl. Abbildungen 22, 23). Erwähnenswert ist weiterhin die vakuolig aufgeweitete GOLGI-Zone des Cytoplasma (G). M = 36 000.



Abbildungen 25 und 26: Das linke Bild zeigt einen ovalvesikulären (BO), das rechte Bild einen rundvesikulären Bouton terminal (BR) nach Langzeitbeschallung (7,5 h). Beide Elemente sind mit dicht gepackten Vesikeln ausgefüllt. In Abbildung 25 sind zwischen den Vesikeln zwei vakuolär-tubuläre Strukturen des glatten ER ($\rightarrow$), in Abbildung 26 ein "dense core vesicle" ($\cdots\blacktriangleright$) zu erkennen. M = 42 000 (Abbildung 25) bzw. M = 24 000 (Abbildung 26).

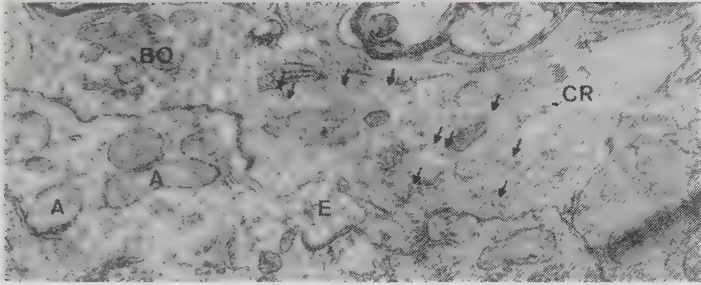


Abbildung 27: 7,5 h beschallte Ratte. Das Bild wird beherrscht von einem unregelmäßig gestalteten rundvesikulären Calyxfortsatz (CR), dessen synaptische Kontaktfläche deutlich von erweitertem Extrazellulärraum (E) mit einstrahlenden Gliafortsätzen unterbrochen wird. Im Inneren des Calyxfortsatzes finden sich vakuoläre Elemente des glatten ER (→). Die cytoplasmatischen Mitochondrien (A) sind geringfügig vakuolär verändert. Links oben befindet sich ein ovalvesikulärer Bouton terminal (BO). M = 24 000.

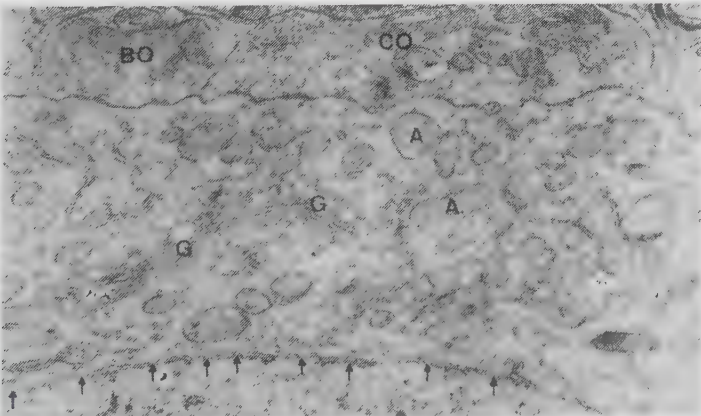


Abbildung 28: 7,5 h stimulierte Ratte. Die obere Bildhälfte wird zum größten Teil von einem länglichen ovalvesikulären Calyxfortsatz (CO) ausgefüllt. Links schließt sich ein ovalvesikulärer Bouton terminal (BO) an. Im darunterliegenden Nervenzellsoma fallen die etwas aufgehellten Mitochondrien (A), die leicht aufgeweiteten GOLGI-Cisternen (G) sowie die zahlreich vorhandenen Kernporen (Pfeile) in der geringfügig aufgeweiteten Kernhülle (vgl. Abbildung 15) auf. M = 24 000.

	Unbe- schallt	Kurzbe- schallt	Langbe- schallt
RMA (CR)	M = 22,77 s = 11,07 N = 20	M = 19,40 s = 11,42 N = 27	M = 17,76 s = 11,54 N = 20
RMA (CO)	M = 20,51 s = 8,39 N = 20	M = 19,54 s = 12,61 N = 26	M = 25,18 s = 11,75 N = 20
RMA (BR)	M = 9,54 s = 8,06 N = 20	M = 9,29 s = 10,55 N = 18	M = 13,80 s = 9,37 N = 16
RMA (BO)	M = 17,32 s = 11,85 N = 20	M = 15,45 s = 13,16 N = 23	M = 24,17 s = 12,39 N = 20
RMA (C)	M = 21,64 s = 9,76 N = 40	M = 19,47 s = 11,90 N = 53	M = 21,14 s = 12,03 N = 40
	++	+	
RMA (B)	M = 13,43 s = 10,75 N = 40	M = 12,74 s = 12,33 N = 41	M = 19,43 s = 12,19 N = 36

Tabelle 10: Morphometrische Daten der präsynaptischen Endigungen.

M = Arithmetischer Mittelwert der relativen Mitochondrienfläche (RMA) in %; s = dazugehörige Standardabweichung; N = Anzahl der Einzelwerte; C = Calyxfortsätze; B = Boutons terminaux; R = Runde Vesikel; O = Ovale Vesikel in den jeweiligen Endigungen; + Statistisch signifikante ($2 P < 0,01$) Differenz; ++ Statistisch hochsignifikante ($2 P < 0,001$) Differenz der Mittelwerte.

	Unbe- schallt		Kurzbe- schallt		Langbe- schallt
RVA (CR)	M = 24,28 s = 7,41 N = 20	++	M = 6,70 s = 1,96 N = 27	++	M = 16,30 s = 5,37 N = 20
RVA (CO)	M = 26,06 s = 5,76 N = 20	++	M = 7,81 s = 3,18 N = 26	++	M = 13,74 s = 5,09 N = 20
RVA (BR)	M = 35,50 s = 6,70 N = 20	++	M = 24,23 s = 8,87 N = 18		M = 21,58 s = 11,10 N = 16
RVA (BO)	M = 32,60 s = 7,34 N = 20	++	M = 20,41 s = 8,13 N = 23		M = 15,04 s = 5,09 N = 20
RVA (C)	M = 25,17 s = 6,61 N = 40	++	M = 7,24 s = 2,66 N = 53	++	M = 14,98 s = 5,34 N = 40
	++		++		
RVA (B)	M = 34,05 s = 7,27 N = 40	++	M = 22,08 s = 8,57 N = 41		M = 18,02 s = 9,54 N = 36

Tabelle 11: Morphometrische Daten der präsynaptischen Endigungen.
M = Arithmetischer Mittelwert der relativen Vesikelfläche (RVA) in %; s = dazugehörige Standardabweichung; N = Anzahl der Einzelwerte;
C = Calyxfortsätze; B = Boutons terminaux; R = Runde Vesikel; O = Ovale Vesikel in den jeweiligen Endigungen; ++ Statistisch hochsignifikante Differenz der Mittelwerte (2 P < 0,001).

	Unbe- schallt		Kurzbe- schallt		Langbe- schallt
$\frac{N}{A}$ (CR)	M = 193,89 s = 53,42 N = 20	++	M = 70,84 s = 30,17 N = 27	++	M = 157,01 s = 51,08 N = 20
$\frac{N}{A}$ (CO)	M = 220,67 s = 53,33 N = 20	++	M = 62,95 s = 33,83 N = 26	++	M = 129,55 s = 46,21 N = 20
$\frac{N}{A}$ (BR)	M = 347,97 s = 91,23 N = 20	++	M = 213,37 s = 84,93 N = 18		M = 196,65 s = 74,44 N = 16
$\frac{N}{A}$ (BO)	M = 328,95 s = 111,13 N = 20	++	M = 216,02 s = 86,33 N = 23	++	M = 148,56 s = 53,67 N = 20
$\frac{N}{A}$ (C)	M = 207,27 s = 54,41 N = 40	++	M = 66,97 s = 33,38 N = 53	++	M = 144,21 s = 49,40 N = 40
	++		++		
$\frac{N}{A}$ (B)	M = 338,46 s = 100,82 N = 40	++	M = 214,86 s = 84,35 N = 41	+	M = 168,87 s = 63,80 N = 36

Tabelle 12: Morphometrische Daten der präsynaptischen Endigungen. M = Arithmetischer Mittelwert der Vesikelzahl pro Flächeneinheit (N/A) in $1/(\mu m^2)$; s = dazugehörige Standardabweichung; N = Anzahl der Einzelwerte; C = Calyxfortsätze; B = Boutons terminaux; R = Runde Vesikel; O = Ovale Vesikel in den jeweiligen Endigungen; + Statistisch signifikante ($2 P < 0,01$) Differenz; ++ Statistisch hochsignifikante ($2 P < 0,001$) Differenz der Mittelwerte.

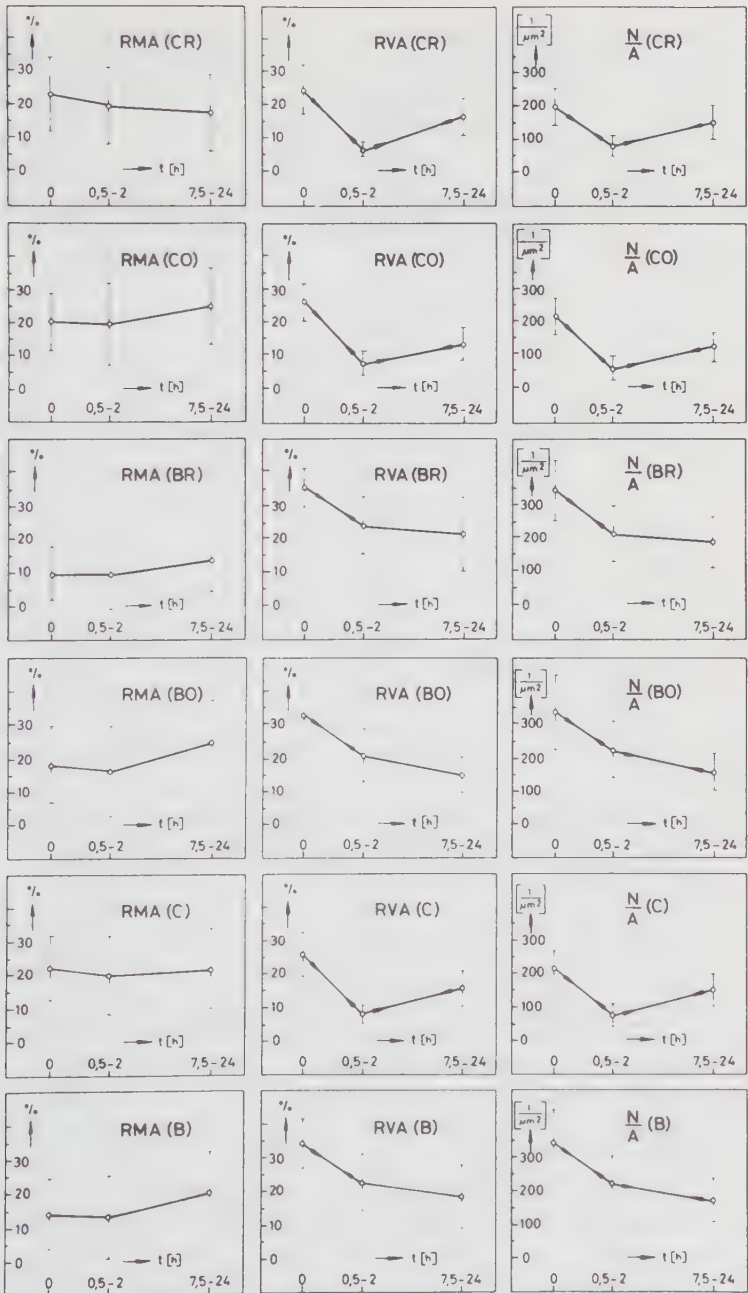


Diagramm 25

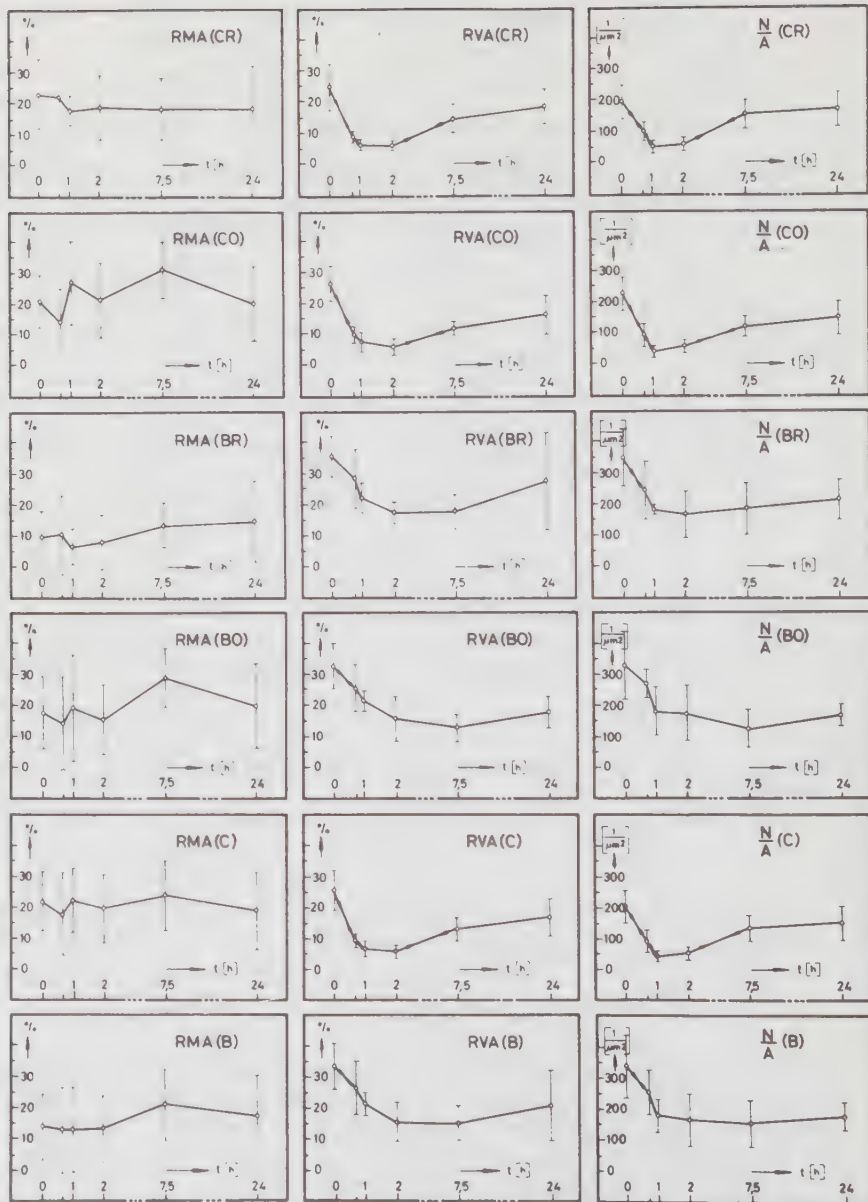


Diagramm 26

Diagramm 25 (vgl. Tabellen 10, 11, 12) und Diagramm 26: Einfluß der Beschallungszeit (Abszissen) auf die morphometrisch ausgewerteten Größen der verschiedenen präsynaptischen Endigungstypen: auf die relative Mitochondrienfläche (RMA), auf die relative Vesikelfläche (RVA) sowie auf die Vesikelanzahl pro Flächeneinheit (N/A). C = Calyxfortsätze; B = Boutons terminaux; R = Runde Vesikel; O = Ovale Vesikel in den jeweiligen Endigungen; $\longleftrightarrow$ Statistische Signifikanz der Mittelwertdifferenzen ($2 P < 0,01$).

5. DISKUSSION

5.1. Diskussion der lichtmikroskopischen Befunde

5.1.1. Diskussion der Mittelwertveränderungen neuronaler Kernvolumina

Kernvolumenvergrößerungen verschiedener Körperzellen nach adäquater Reizung wurden erstmals 1950 von BENNINGHOFF⁹ beobachtet. Er bezeichnete dieses Phänomen als "funktionelles Kernödem" und interpretierte es als Indikator eines gesteigerten Tätigkeitszustandes der erregten Zellen. Einige Jahre später äußerten WÜSTENFELD und SPRENGER¹¹⁸ (1958) die Ansicht, die Kernvoluminazunahme nach adäquater Reizung sei als Ausdruck eines spezifischen Stoffwechselgeschehens anzusehen. Unter diesen Gesichtspunkten kann die an den Ganglienzellen unserer Versuchstiere nachgewiesene Nucleusschwellung als morphologisches Äquivalent erhöhter metabolischer Aktivität der Neurone gedeutet werden. Es ist anzunehmen, daß sie mittelbar oder unmittelbar durch eine vermehrte synaptische Transmissionstätigkeit an den Endigungen der aus dem Ganglion spirale cochleae stammenden zentralen Neuriten bipolarer Nervenzellen verursacht wird, deren periphere Fortsätze die durch adäquate Reizung hervorgerufenen elektrischen Vorgänge an den sekundären Sinneszellen des CORTIschen Organs übernehmen (vgl. Kapitel 2.2.).

Aus unseren quantitativ ermittelten Ergebnissen an Neuronkernen der Nuclei cochleares (vgl. Kapitel 4.1.1.) geht hervor, daß die nach Beschallung beobachtete Nucleusvergrößerung ein erstaunliches Ausmaß erreicht: Die maximal geschwellenen Kerne aller Bereiche sind durchschnittlich etwa 3,5-mal größer als die im Ruhezustand befindlichen Nuclei. Beim Vergleich dieser Befunde mit Untersuchungsergebnissen anderer Autoren (NEUBERT und WÜSTENFELD⁷³, 1955; LANGE⁵⁸,

1940) wird jedoch deutlich, daß durch die genannte Vergrößerungsrate noch keineswegs der maximale Schwellungszustand erreicht zu sein scheint. So fanden NEUBERT und WÜSTENFELD⁷³ an den äußeren Haarzellen des CORTischen Organs beschallungsinduzierte Kernvolumensteigerungen um das Sechs- bis Achtfache. In Übereinstimmung mit den Angaben von NEUBERT und WÜSTENFELD⁷³ bezeichnete LANGE⁵⁸ eine achtfache Voluminavergrößerung als das Höchstmaß der Hypertrophie glatter Muskelzellkerne. Daß es sich bei diesen funktionellen Schwellkernen um eine physiologische und nicht um eine pathologische Veränderung handelt, folgerten WÜSTENFELD und SPRENGER¹¹⁸ (1958) aus dem Vorhandensein gleichartiger Verteilungskurven bei ungereizten, "ruhenden" Zellkernen sowie bei experimentell vergrößerten Nuclei.

Wie in Kapitel 3.1.3. ausführlich dargestellt wurde, unterteilten wir den Akustikuskomplex, d.h. das durch den Nucleus cochlearis ventralis et dorsalis einer Körperseite gebildete Gebiet sowohl in drei senkrecht zur Längsachse als auch in drei parallel zur Längsachse des Akustikuskomplexes gelegene Bereiche, in denen die karyometrische Auswertung jeweils getrennt vorgenommen wurde. Auf diese Weise sollten eventuell vorhandene Unterschiede der Kerngrößenveränderungen und des nuclearen Reaktionsverhaltens längs der caudocranialen Kernausdehnung sowie zwischen dem Nucleus cochlearis ventralis und dem Nucleus cochlearis dorsalis erfaßt werden.

Für alle genannten Teilgebiete des Akustikuskomplexes ergab sich typischerweise ein stufenweiser Verlauf der Zellkernvergrößerung: enorme Anstiege der Voluminamittelwerte direkt nach dem Einsetzen der Beschallung sowie im Intervall zwischen ein- und zweistündiger bzw. zwischen zwei- und vierstündiger Stimulationsdauer. Ein ähnliches zeitliches Verhalten der reaktiven Kernschwellung beobachteten WÜSTENFELD und GLEISS¹¹⁴ (1969) im Akustikuskomplex von Meerschweinchen. Dies bedeutet, daß Nervenzellreizung nicht zu einer Nucleus-

vergrößerung führt, die linear von der Beschallungszeit abhängig ist, sondern daß sie - unabhängig von der Tierspezies - ein rhythmisches Kernwachstum hervorruft, das NEUBERT und WÜSTENFELD⁷³ (1955) als "rhythmisches Kernpulsieren" bezeichneten. Haben die Zellkerne nach mehreren Wachstumsschüben diejenige Größe erreicht, bei der es ihnen möglich ist, den erhöhten cytoplasmatischen Bedürfnissen an Kernsyntheseprodukten nachzukommen (vgl. Kapitel 5.2.1.), so stellt sich erneut ein Fließgleichgewichtszustand ein. Als morphologischer Hinweis auf diese Stabilisierung im Stoffwechselgeschehen kann die Tatsache gewertet werden, daß sich die Kerngröße nach zwei- bis vierstündiger Stimulation auf einem bestimmten Niveau einpendelt. Darüberhinaus kommt es zwischen acht- und vierundzwanzigstündiger Reizung in allen Bereichen der Nuclei cochleares zu einem Absinken der Kernvoluminawerte. Die Ursache für diese Erscheinung dürfte in einer Gewöhnung der Nervenzellen an den extremen Beschallungsreiz und die damit verbundene funktionelle Belastung liegen.

Besonders deutlich gehen die rhythmischen Kernpulsationen aus dem Verhalten der in den drei Schnitthöhen erhaltenen Kernvoluminamittelwerte im Zuge steigender Stimulationsdauer hervor: Die zeitlichen Verlaufskurven sind gekennzeichnet durch einen ständigen Wechsel zwischen Volumenzunahme und Stagnation bzw. Abnahme der Kernvolumina. Allerdings spielen sich diese wellenförmigen Bewegungen nicht synchron in allen drei Schnitthöhen ab, sondern hinken im caudalen Kerngebiet beider Seiten um einen Beschallungsschritt gegenüber den mittleren und cranialen Bereichen nach. Unter der Annahme, daß Zellkernvergrößerungen den morphologischen Ausdruck erhöhter metabolischer Tätigkeit darstellen, bedeuten diese Befunde, daß die zelluläre Stoffwechselaktivität bei gleichbleibend fortdauernder Stimulation keineswegs kontinuierlich gesteigert wird, sondern daß sie zwischenzeitliche Verminderungen erfährt. Während dieser Zeitspannen mit verringerter metabolischer Tätigkeit zeichnen

sich Zellen, die in einer anderen Schnitthöhe liegen, unter Umständen durch eine vermehrte Stoffwechselaktivität aus.

Die Unterteilung in ein dorsomediales, intermediales und ventrolaterales Gebiet jedes Akustikuskomplexes wurde so vorgenommen, daß die beiden erstgenannten Areale dem Nucleus cochlearis dorsalis, der ventrolaterale Bereich dagegen dem Nucleus cochlearis ventralis entsprachen. Dadurch war die Möglichkeit gegeben, die reizungsbedingten Kernvoluminaveränderungen im Nucleus cochlearis ventralis denjenigen des Nucleus cochlearis dorsalis gegenüberzustellen. Im unstimulierten Zustand beobachteten wir auf beiden Seiten einen kontinuierlichen Abfall der Kernvoluminawerte von ventrolateral nach dorsomedial. Dieser Befund stimmt mit den Untersuchungsergebnissen von LUDI⁶⁵ (1951) überein, der im Nucleus cochlearis ventralis des Menschen - verglichen mit dem Nucleus cochlearis dorsalis - einen höheren Anteil an Kernklassen mit großen Nucleusvolumina fand, woraus sich im ventralen Kerngebiet zwangsläufig ein größerer arithmetischer Mittelwert ergeben müßte, über den der Autor allerdings keine Aussagen macht. Im übrigen zeigen die Nuclei cochleares ventralis et dorsalis im Laufe der Beschallung ein ausgesprochen analoges Verhalten hinsichtlich der Art und Weise sowie hinsichtlich des zeitlichen Verlaufs ihres stufenweisen, deutlich rhythmischen Kernwachstums. Daraus geht hervor, daß die Zellkerngrößen, die Hinweise auf die intrazelluläre Stoffwechselaktivität zu geben vermögen, in beiden Anteilen des Akustikuskomplexes sehr ähnlich durch die adäquate Reizung beeinflußt werden.

Zusammenfassend ergibt sich aus unseren karyometrischen Untersuchungen, daß weder längs der caudocranialen Ausdehnung der Nuclei cochleares noch zwischen dorsalem und ventralem Teilgebiet des Akustikuskomplexes deutlich unterschiedliche Reaktionen auf die Beschallung festzustellen sind. Darüberhinaus zeigen auch die Ganglienzellkerne der rechten und linken Körperseite untereinander gute Überein-

stimmung ihrer reizungsbedingten Voluminaveränderungen. Dies bedeutet, daß die experimentelle Beschallung in sehr ähnlicher Weise auf die Stoffwechselaktivität aller Neurone in den Nuclei cochleares ventralis et dorsalis einwirkt. Genaueren Aufschluß über das intraneuronale Stoffwechselgeschehen nach adäquater Reizung sollen die in Kapitel 5.2. diskutierten stimulationsinduzierten Veränderungen der Ultrastruktur von Ganglienzellen in den Nuclei cochleares geben.

Bei diesen Betrachtungen über die Voluminzunahme von Ganglienzellkernen nach Neuronreizung drängt sich die Frage auf, welche Vorgänge im zellulär-molekularen Bereich den zum "funktionellen Kernödem" (BENNINGHOFF⁹, 1950) führenden Wassereinstrom in den Nucleus verursachen könnten. Wie bei allen Flüssigkeitsverschiebungen im Organismus dürfte das auslösende Moment für den Wasserinflux primär in veränderten osmotischen Verhältnissen zu suchen sein, wie sie im Zusammenhang mit passiven oder aktiven Transport- bzw. mit Stoffwechselvorgängen zustandekommen.

So wies STÖCKER¹⁰⁰ 1962 mit Hilfe autoradiographischer Untersuchungsmethoden eine Steigerung des ³H-Leucin-Einbaus im Kern funktionell gereizter Zellen des exokrinen Pankreas nach, wobei sich auffallenderweise die nucleare ³H-Leucin-Inkorporationsrate in linearer Abhängigkeit zu den stimulationsbedingten Kerngrößenschwankungen veränderte. Dieser Befund läßt vermuten, daß auch die nach Beschallung geschwellenen Nervenzellkerne unserer Versuchstiere vermehrt Eiweißkörper enthalten, die sowohl infolge der erhöhten Anzahl osmotisch wirksamer Teilchen als auch aufgrund der an Proteinen zahlreich vorhandenen polaren und daher hydrophilen Gruppen befähigt sind, einen Wassereinstrom in den Zellkern hervorzurufen.

Ein erheblicher Teil dieser vermehrten Eiweißmoleküle dürfte Enzymfunktion bei den nach Reizung gesteigert ablaufenden Stoffwechsel-

vorgängen des Nucleus übernehmen und beispielsweise als RNS-Polymerase bei der Transkription tätig werden. Aus Versuchen an Amöben, die GOLDSTEIN³⁹ (1958) durchführte, ergab sich darüberhinaus eine weitere Aufgabe zumindest für einen Teil der nuclearen Proteinmoleküle: Sie sollen an der Vermittlung von Kern-Cytoplasma-Beziehungen dadurch beteiligt sein, daß Eiweißkörper vom Kern ins Cytoplasma wandern und dabei wahrscheinlich spezifische Träger für RNS-Moleküle darstellen, indem sie mit diesen Bindungen eingehen und als RNS-Protein-Komplexe im Cytoplasma erscheinen. Da die RNS-Moleküle - im Gegensatz zu den Eiweißkörpern - nicht in den Kern zurückkehren, ist GOLDSTEIN³⁹ der Ansicht, daß sich die Proteine im Cytoplasma von der RNS befreien und sich anschließend wieder im Kern ansammeln, um erneut an der Bildung von RNS-Protein-Komplexen sowie am RNS-Transport aus dem Kern heraus teilzunehmen.

Außerdem dürften die nach Zellreizung vermehrt vorhandenen Proteinmoleküle eine entscheidende Rolle bei der nach Stimulation notwendigen Umwandlung von spiralisierten, metabolisch inaktiven DNS-Bezirken ("Heterochromatin") in entspiralisierte, genetisch aktive DNS-Ketten-Bereiche ("Euchromatin") spielen. Da diese zunächst hypothetische Annahme mit den beschallungsinduzierten ultrastrukturellen Kernveränderungen in Übereinstimmung zu bringen ist, soll sie erst in Kapitel 5.2.1. eingehender diskutiert werden.

Ein weiterer Grund für den erhöhten osmotischen Druck im Zellkern mag in einem vergrößerten nuclearen Bestand an verschiedenen Metaboliten liegen. Einige von ihnen dürften als Nebenprodukte bei den anabolen Stoffwechselreaktionen des Zellkerns anfallen, andere als Ausgangsverbindungen bei den gesteigert ablaufenden synthetischen Prozessen des Nucleus benötigt werden und zu diesem Zweck aus dem Cytoplasma einströmen. Markierungsexperimente haben beispielsweise gezeigt, daß einige Purin-, Pyrimidin-, Nucleotid- und Aminosäure-

moleküle leicht vom Cytoplasma in den Kernraum überzutreten vermögen (PRESCOTT⁸⁷, 1960). Weiterhin ist anzunehmen, daß energiereiche Verbindungen wie ATP, die im cytoplasmatischen Mitochondrienstoffwechsel oder bei der Glykolyse der löslichen Cytoplasmafraktion entstehen, in den Kern einströmen, um die nötige Energie für die vermehrt ablaufenden anabolen Vorgänge zu liefern.

Darüberhinaus könnte eine zusätzliche Ursache für den Wassereinstrom in die Zelle und in den Zellkern möglicherweise darin zu suchen sein, daß die Nervenzellmembran im Zeitmittel überwiegend in depolarisiertem Zustand vorliegt. Dieser wird bei fortlaufender Beschallung durch die ständig an der Soma- und Dendritenmembran eintreffenden Impulse afferenter Nervenfasern hervorgerufen. Infolge der damit verbundenen Änderungen der Permeabilitätsverhältnisse an der Membran kommt es zu einem Na^+ -Ein- und einem K^+ -Ausstrom. Bei ununterbrochener Reizung, wie sie in unseren Versuchen vorliegt, ist anzunehmen, daß es der Zelle nur mit zeitlicher Verzögerung gelingt, unter dauernder Energieaufwendung die eingeströmten Na^+ -Ionen vollständig aus dem Zellinnern hinaus- und die ausgeströmten K^+ -Ionen wieder in das Zellinnere hineinzupumpen. Die somit im Zellinneren verbliebenen Na^+ -Ionen dürften - neben anderen Faktoren - eine Ödemisierung der Zelle und aller ihrer Organellen bewirken, da die Na^+ -Ionen einerseits aufgrund der geringfügig erhöhten Teilchenzahl osmotisch wirksam werden und andererseits über eine wesentlich größere Hydrathülle verfügen als die K^+ -Ionen.

Letzteres geht aus dem Radienvergleich der Na^+ - und K^+ -Ionen mit und ohne Hydrathülle deutlich hervor: Der Kristallradius des Na^+ -Ions beträgt 0,95 Å, derjenige des K^+ -Ions 1,33 Å, wohingegen die hydratisierten Ionen einen Radius von 5,6 Å (Na^+) bzw. 3,8 Å (K^+) aufweisen. Dies bedeutet, daß das ionisierte Natriumatom, das der dritten Periode angehört, trotz geringerer Kernladungszahl im Ver-

gleich zum ionisierten Kaliumatom (vierte Periode) eine erheblich stärkere elektrostatische Anziehungskraft auf Wasserdipole ausübt. Als hauptsächliche Ursache dieses Effekts ist die Vergrößerung des Ionenradius anzusehen, die beim Übergang von der dritten (Na) zur vierten (K) Periode durch eine hinzukommende elektronengefüllte Schale entsteht. Infolgedessen kommt es dazu, daß Na^+ -Ionen mehr Wassermoleküle zu binden vermögen und dadurch eine größere Hydrathülle als K^+ -Ionen besitzen. Daher müssen Änderungen im Na^+ - K^+ -Gleichgewicht - wo auch immer sie stattfinden - zwangsläufig zu Verschiebungen von Wassermolekülen führen.

Aus diesen Ausführungen geht hervor, daß die nach Nervenzellirritation eintretende Kernschwellung durch das Zusammenspiel mehrerer Faktoren entsteht, wobei die eigentlich wirksamen Mechanismen osmotischer Natur sein dürften. Welcher Faktor allerdings überwiegend für den Flüssigkeitseinstrom verantwortlich ist, ist augenblicklich kaum abzuschätzen und müßte durch künftige Experimente geklärt werden.

5.1.2. Diskussion der Veränderungen in der neuronalen Kernklassenverteilung

Die in Kapitel 4.1.2. geschilderten Befunde der "curve-resolver-Analyse" lassen deutlich erkennen, daß die experimentell erhaltenen Teilkollektivmittelwerte, die die charakteristischen Größen der Häufigkeitsverteilungskurven zusammensetzenden normalverteilten Kernpopulationen darstellen, in die beiden geometrischen Folgen der Form $V_1, V_1 \sqrt[3]{2}, V_2, V_2 \sqrt[3]{2}, V_4, V_4 \sqrt[3]{2} \dots$ ($V_2 = 2 V_1, V_4 = 4 V_1$) mit den zwei Anfangsgliedern $V_1 = 23,1 \mu\text{m}^3$ bzw. $V_1 = 27,5 \mu\text{m}^3$ eingeordnet werden können. Die durchschnittlichen Abweichungen betragen für die unterschiedlich lang stimulierten Tiere zwischen 2,0 % und

3,3 %. Damit bewegt sich die Abweichungsrate der experimentellen von den theoretischen Daten bei allen Versuchstieren in einer Größenordnung, die es gestattet, den experimentell erhaltenen Kernvoluminawerten der ungereizten sowie der verschieden lang beschallten Ratten die beiden obengenannten geometrischen Folgen zugrunde zu legen. Das wiederum bedeutet, daß sich die einzelnen Kernpopulationen unserer Versuchstiere wie $1 : 1\sqrt{2} : 2 : 2\sqrt{2} : 4 : 4\sqrt{2} \dots$ verhalten, d.h. daß die Wachstumsreihen JACOBJS ($1 : 2 : 4 \dots$) und HERTWIGS ($1\sqrt{2} : 2\sqrt{2} : 4\sqrt{2} \dots$) sowohl für die Kernvolumina ungereizter als auch adäquat gereizter Ganglienzellen zutreffen.

Während JACOBJ^{51,52} (1925, 1931) und HERTWIG⁴⁵ (1938/9) ihre Verdopplungs- und Zwischenklassenreihen aufgrund der Kerngrößenverteilung ungereizter Nuclei aufstellten und nur für experimentell nicht beeinflusste Zellkerne postulierten, ist in unseren Untersuchungsergebnissen - neben einer Bestätigung der JACOBJSchen und HERTWIGSchen Theorien - die Gültigkeit dieser Hypothesen auch für funktionell belastete Zellkerne nachgewiesen. Daraus geht hervor, daß Nervenzellkerne auf adäquate Reizung mit einer rhythmischen Wachstumstätigkeit reagieren, wobei sich die resultierenden Schwellkerne - ebenso wie die Nuclei nicht stimulierter Tiere - in die JACOBJSche Verdopplungs- und in die HERTWIGSche Zwischenklassenreihe einordnen lassen. Dieses Ergebnis ist umso erstaunlicher, als wir zur Ermittlung der Kernklassen nicht die relativen Maxima der Gesamthäufigkeitsverteilungskurven, deren sich JACOBJ^{51,52} und HERTWIG⁴⁵ bedienten, sondern die Mittelwerte der sie zusammensetzenden normalverteilten Einzelkollektive heranzogen.

Darüberhinaus schlägt sich die "pulsierende" Wachstumstätigkeit, die bereits aus dem Verhalten der Kernvoluminamittelwerte mit steigender Beschallungsdauer (vgl. Kapitel 4.1.1.) abzulesen war, auch in den Häufigkeitsverteilungskurven nieder. So treten nach dreißig-

minütiger Beschallung ebenso wie im Intervall zwischen ein- und zweistündiger Irritation heftige Wachstumsschübe in Erscheinung, die sich in einer Vergrößerung der Variationsbreiten durch Hinzukommen großer Voluminawerte, in einer Verstärkung der Kurvenasymmetrien sowie in einer Vermehrung der Teilkollektivanzahl äußern. Dagegen kommt es während der Zeitspannen zwischen halb- und einständiger, zwischen zwei- und vierständiger sowie zwischen acht- und vierundzwanzigständiger Beschallung zu Stagnationserscheinungen, die ihren Ausdruck im Verschwinden der größten vorhandenen Voluminawerte und einer daraus resultierenden Abnahme der Variationsbreiten, in geringfügigen Kurvenverschiebungen zu kleineren Werten hin sowie in einer Abnahme der Kurvenasymmetrien finden. Diese Phänomene sind im Intervall zwischen acht- und vierundzwanzigständiger Irritation so stark ausgeprägt, daß sich eine rückläufige Bewegung im Sinne einer Volumenverkleinerung ergibt, die möglicherweise als Folge einer Gewöhnung an fortdauernde Reizung zu deuten ist.

Die Tatsache, daß bei der 0,5 h beschallten Ratte die durchschnittliche Abweichung der experimentellen von den theoretisch berechneten Daten mit 3,3 % relativ groß ist, spricht für eine noch nicht abgeschlossene Wachstumstätigkeit nach dreißigminütiger Reizung. Eine ähnliche Ursache dürfte dem Auftreten sehr hoher Abweichungsraten bei den nach zweistündiger Geräuscheinwirkung neuentstandenen Voluminaklassen V_{16} und $V_{16}\sqrt{2}$ zugrundeliegen. Dagegen finden sich die kleinsten Abweichungswerte des zwei Stunden gereizten Tieres bei denjenigen Kernklassen, bei denen noch beim einstündig irritierten Tier sehr hohe Abweichungsraten vorliegen. Daraus läßt sich - ähnlich wie aus anderen Beispielen - eine allmähliche Annäherung der Experimental- an die theoretischen Idealwerte ableiten, der offensichtlich ein Stabilisierungsvorgang und in dessen Folge ein gewisser Abschluß der Kernvolumenzunahme zugrundeliegt.

Aus der durchschnittlichen Abweichungsrate von nur 2,0 % beim acht Stunden stimulierten Tier geht hervor, daß bei ihm eine im Laufe unserer Versuchsreihe optimale Annäherung der experimentellen an die theoretischen Werte vorliegt, d.h. daß bei diesem Tier die JACOBSSchen und HERTWIGSchen Hypothesen am besten zutreffen. Offenbar überwiegen in den niedrigeren Beschallungsstufen die Kernwachstumsvorgänge, während der die Nucleusvolumina noch auf ihre Idealwerte zustreben, wohingegen nach länger als acht Stunden dauernder Reizung deutlich rückläufige Bewegungen infolge einer Gewöhnung an den äußeren Reiz zu beobachten sind.

Als weiteres Anzeichen des erst nach acht Stunden abgeschlossenen Kernwachstums sind die bei der Einordnung der experimentellen Werte in die beiden geometrischen Folgen entstehenden Lücken in der fortlaufenden Zahlenfolge zu werten (vgl. Tabellen 6, 7). Erstaunlicherweise treten sie jedoch nur in der geometrischen Folge 2 vom unbeschallten bis zum achttündig gereizten Tier auf, während sie in der geometrischen Folge 1 lediglich bei der halbstündig stimulierten Ratte anzutreffen sind. Beiden geometrischen Folgen ist hingegen gemeinsam, daß sich beim vierundzwanzig Stunden stimulierten Tier keine Lücken bei der Eingliederung der experimentellen Werte in die theoretischen Folgen ergeben.

Ausdruck eines noch nicht vollendeten Kernwachstums ist außerdem die Erscheinung, daß in der geometrischen Folge 1 vom dreißigminütig bis zum zweistündig gereizten Tier, in der geometrischen Folge 2 von der zwei Stunden bis zur vierundzwanzig Stunden stimulierten Ratte in einigen Voluminaklassen zwei Werte vorgefunden werden, wobei der kleinere Wert eines Wertepaares meist weiter vom Idealwert entfernt ist als der größere und daher als Kernpopulation gedeutet werden könnte, die auf den Idealwert zustrebt. Beim vierundzwanzigstündig gereizten Tier fällt darüberhinaus auf, daß der dem Ideal-

wert näher gelegene Wert der vier vorhandenen Wertepaare in drei Fällen mit größerer, in einem Fall mit gleicher Wahrscheinlichkeit auftritt wie der jeweils ferner liegende Wert. Da bei den anderen Tieren oft der entfernter liegende Wert eine höhere Auftretswahrscheinlichkeit hat, ergibt sich die Folgerung, daß sich auch in der geometrischen Folge 2 nach vierundzwanzigstündiger Reizung eine deutliche Annäherung an die Idealwerte und demzufolge eine Stabilisierung der Kernvolumina vollzieht, die in der geometrischen Folge 1 bereits nach zweistündiger Beschallung abgeschlossen zu sein scheint.

Erwähnenswert ist außerdem, daß sich die beschallungsinduzierten Veränderungen der Kerngrößenverteilung auf der rechten und linken Körperseite in gleicher Weise vollziehen. Sogar die einzelnen Teilkollektivmittelwerte sind meistens etwa gleich groß. Außerdem kann aus der mit fortdauernder Stimulation eintretenden Verschiebung des Kurvenbeginns zu größeren Werten (Abbildung 32) geschlossen werden, daß die adäquate Reizung bei allen Zellen einer Körperseite eine Vergrößerung der Kernvolumina hervorruft. Dies steht zunächst in Gegensatz zu den Untersuchungsergebnissen von NEUBERT und WÜSTENFELD⁷³ (1955), die nach intensiver monofrequenter Beschallung im betreffenden Ansprechareal des CORTIschen Organs immer unveränderte Nuclei neben enorm geschwollenen Zellkernen vorfanden. Die Autoren erklärten diesen Befund mit der Annahme, die Zellen mit vergrößertem Nucleus reagierten auf die einwirkende Schallfrequenz, während die unveränderten Zellen anderen, wahrscheinlich benachbarten Frequenzen zuzuordnen seien. Damit klärt sich auch der Widerspruch zu unseren Ergebnissen auf: Da unsere Versuchstiere durch ein Klingelgeräusch mit einem sehr breiten Frequenzspektrum (vgl. Kapitel 3.1.1.) beschallt wurden, werden alle Nervenzellen der Nuclei cochleares, in deren drei Untereinheiten eine ähnliche tonotope Gliederung vorliegt wie auf der Lamina basilaris des Innenohres

(vgl. Kapitel 2.2.), durch die Verarbeitung der verschiedenen Frequenzen funktionell belastet.

In Kapitel 4.1.2. wurde gezeigt, daß die Teilkollektivmittelwerte, die als charakteristische Größen der die Gesamtkollektive zusammensetzenden Einzelpopulationen anzusehen sind, als geometrische Folgen der Form $V_1, V_1\sqrt{2}, V_2, V_2\sqrt{2}, V_4, V_4\sqrt{2} \dots$ angeordnet werden können. Zu Beginn von Kapitel 5.1.2. wurde daraus die Folgerung abgeleitet, daß die JACOBSchen und HERTWIGschen Hypothesen nicht nur für ruhende Zellkernpopulationen - wie es die Autoren selbst postulierten (JACOB⁵¹, 1925; JACOB⁵², 1931; HERTWIG⁴⁵, 1938/9; HERTWIG⁴⁶, 1942) -, sondern auch für adäquat gereizte Nucleuspopulationen zutreffen. Bei dem Versuch, die Wachstumsreihen JACOBSs ($1 : 2 : 4 \dots$) und HERTWIGs ($1\sqrt{2} : 2\sqrt{2} : 4\sqrt{2} \dots$) durch eine allgemeinformulierte Gleichung auszudrücken, fällt auf, daß beide Zahlenfolgen die Bestandteile einer einzigen geometrischen Folge der Form $a_n = k q^n$ ($n = 0, 1, 2, 3 \dots$; $q = \sqrt{2}$; $k = \text{const.} = V_1$; $a_n = n\text{-tes Glied der Folge}$) darstellen. Daraus ergibt sich zwangsläufig die Folgerung, daß die für unabhängig voneinander gehaltenen und häufig so verschieden interpretierten Wachstumsreihen JACOBSs und HERTWIGs letztlich beide durch einen einzigen Vorgang zustandekommen: die stufenweise Volumenvergrößerung mit dem Faktor $\sqrt{2}$. Dadurch verlieren die HERTWIGschen Kernklassen die ihnen aufgrund ihrer Stellung "zwischen" den Hauptklassen beigemessene zweitrangige Bedeutung und werden zum gleichwertigen Glied der gesamten Wachstumsreihe. Gleichzeitig wird die früher übliche, unterschiedliche Deutung der JACOBSchen Verdopplungs- und der HERTWIGschen Zwischenklassenreihe auf ein einziges Problem reduziert.

Beim Übergang von der Volumen- zur Oberflächenberechnung, wie es HERTWIG^{45,46} zur Erklärung der Entstehung seiner Zwischenklassen

getan hat, ergibt sich für den Kernwachstumsrhythmus anstelle von $\sqrt{2}$ der Faktor 2. Da das Verdopplungsprinzip von vielen anderen biologischen Systemen bekannt ist, erscheint ein Wachstum in Verdopplungsschritten ad hoc plausibler als eine $\sqrt{2}$ -Periodik. Allerdings trifft HERTWIGs Behauptung⁴⁵, die Kernoberfläche verdoppele sich bei Vergrößerung des Volumens um den Faktor $1\sqrt{2}$, nicht exakt zu, denn, um Oberflächenverdopplung zu erreichen, muß eine Volumenzunahme um den Faktor $2\sqrt{2}$ vorliegen. Diese Tatsache ändert jedoch nichts daran, daß sich ein Volumenwachstum mit dem Faktor $\sqrt{2}$ grundsätzlich auf ein Oberflächenwachstum im Verdopplungsrhythmus zurückführen läßt. Da wir oben sowohl die JACOBSsche Verdopplungs- als auch die HERTWIGsche Zwischenklassenreihe auf eine einzige geometrische Folge der Form $a_n = k q^n$ mit $q = \sqrt{2}$ zurückgeführt haben, ergibt sich als Erklärung für die Entstehung beider Wachstumsreihen die Hypothese der Kernoberflächenverdopplung.

Unter diesen Gesichtspunkten ist nicht mehr die Volumenvergrößerung in Verdopplungsschritten, sondern die stufenweise Oberflächenverdopplung der primäre und hauptsächliche Vorgang des Kernwachstums. Daß sich bei mehrfacher Oberflächenverdopplung Voluminawerte aus der "Verdopplungsreihe" ergeben - beispielsweise verachtfacht sich das Volumen bei Oberflächenvervierfachung -, ist in diesem Zusammenhang als Nebenerscheinung zu werten. Daher sollte unter den genannten Voraussetzungen auch die Volumenverdopplung als Oberflächenphänomen interpretiert werden.

Bei diesen Betrachtungen stellt sich die Frage, welche Ursachen für die Entstehung der Verdopplungsrythmen verantwortlich sein könnten. JACOB⁵¹, der 1925 erstmals den Verdopplungsrythmus der Kernvolumina unbelasteter Zellen beobachtete, äußerte die Vermutung, den Volumenverdopplungen lägen primär Chromosomenverdopplungen mit nachfolgender Vermehrung des paraplasmatischen Materials

zugrunde. Spätere mikrophotometrische Untersuchungen zeigten jedoch, daß Chromosomenverdopplungen immer Kernvolumenverdopplungen nach sich ziehen (FAUTREZ et al.³², 1955; FAUTREZ³¹, 1956), daß aber umgekehrt Volumenverdopplungen des Nucleus nicht zwangsläufig das Ergebnis von Chromosomenverdopplungen darstellen (LEUCHTENBERGER und SCHRADER⁶³, 1951; ALFERT et al.³, 1955; ALFERT², 1958). In diesem Zusammenhang wiesen ALFERT et al.³ mit mikrophotometrischen Methoden zwar eine lineare Beziehung zwischen der Kerngröße und der im Kern enthaltenen Menge an Nicht-Histone-Proteinen nach (vgl. auch Kapitel 5.1.1.), jedoch ist damit noch nichts über die Ursachen und die Mechanismen ausgesagt, die zu Kernvolumenvergrößerungen gerade in Verdopplungsschritten führen.

Ähnlich unklar sind bis heute die Faktoren, die zur Bildung der HERTWIGschen "Zwischenklassen" führen. HERTWIG^{45,46} (1938/9, 1942) äußerte anfänglich die Vorstellung, daß sich bei der Entstehung der Zwischenklassen nur der mütterliche bzw. der väterliche Anteil des gesamten Chromosomenmaterials verdoppele, - ein Mechanismus, der aufgrund der oben zitierten mikrophotometrischen Untersuchungen (LEUCHTENBERGER und SCHRADER⁶³, 1951; ALFERT et al.³, 1955; ALFERT², 1958) unwahrscheinlich geworden ist. Später tendierte HERTWIG selbst zu einer anderen Erklärungsmöglichkeit, die die Oberflächenverdopplung als ausschlaggebendes Moment für das Zustandekommen der "Zwischenklassen" in den Vordergrund rückte. LUDI⁶⁵ (1951), der ebenfalls die Oberflächenverdopplung als grundlegenden Vorgang der "Zwischenklassenentstehung" postulierte, begründete ihren Sinn mit der enorm wichtigen Bedeutung, die die Kernoberfläche sowohl für den Stoffaustausch zwischen Kern und Cytoplasma als auch für den Stoffwechsel und die Trophik der gesamten Zelle besitzt.

An anderer Stelle dieses Kapitels wurde gezeigt, daß die JACOBJSche

Verdopplungs- wie auch die HERTWIGsche Zwischenklassenreihe als Bestandteile von geometrischen Folgen mit dem Quotienten $q = \sqrt{2}$ anzusehen sind. Sie können daher beide auf eine stufenweise Volumenvergrößerung um den Faktor $\sqrt{2}$ reduziert werden - ein Tatbestand, der von anderen Autoren (z.B. HERTWIG⁴⁵, 1938/9; HERTWIG⁴⁶, 1942; LUDI⁶⁵, 1951) nur für die Zwischenklassenreihe gefordert wurde. Aus diesem Grund kann die Bildung aller Kernvoluminaklassen, d.h. sowohl die der Verdopplungs- als auch die der Zwischenklassenreihe, auf eine stufenweise Oberflächenverdopplung des Nucleus zurückgeführt werden. Daraus wiederum ergibt sich die Konsequenz, daß in Zukunft die Aufmerksamkeit nicht mehr vornehmlich den Verdopplungsvorgängen der Kernvolumina, sondern vielmehr den Verdopplungsmechanismen der Nucleusoberfläche gewidmet werden sollte. Diese Forderung gewinnt vor allem dadurch besondere Bedeutung, daß nicht nur bei ruhenden, sondern auch bei adäquat gereizten Zellkernen Wachstumsreihen mit schrittweiser Kernoberflächenverdopplung gefunden wurden. Es ist anzunehmen, daß die Ursachen dieser Vorgänge im molekularen Bereich, möglicherweise im molekularen Membranaufbau selbst zu suchen sind. Ergänzende biochemische Untersuchungen sind zur Abklärung des Fragenkomplexes notwendig.

5.2. Diskussion der elektronenmikroskopischen Befunde

5.2.1. Diskussion der ultrastrukturellen Befunde am Nervenzellkern

Die stufenweise Nucleusvergrößerung der Ganglienzellen in den Nuclei cochleares dorsalis et ventralis nach adäquater Reizung (vgl. Kapitel 4.1.) stellt das hauptsächlichste lichtmikroskopische Untersuchungsergebnis dar. In Kapitel 5.1.1. versuchten wir bereits, für diesen Vorgang Ursachen im zellulär-molekularen Bereich aufzuzeigen. Zur weitergehenden Deutung des Phänomens der "Kernschwellung" nach funktioneller Reizung sollen im folgenden die elektronenmikroskopischen Befunde an Nervenzellen der Nuclei cochleares ventrales von Ratten beitragen, die denselben experimentellen Bedingungen unterworfen wurden wie die Tiere, an denen die lichtmikroskopischen Untersuchungen vorgenommen wurden.

Die nach kurz- und langdauernder Beschallung beobachtete Kernmatrixaufhellung bestätigt den bereits von BENNINGHOFF⁹ (1950) postulierten Wassereinstrom in den Zellkern als Ursache des "funktionellen Kernödems". Darüberhinaus deutet die Aggregatbildung von Chromatin nach kurzzeitiger Stimulation darauf hin, daß es bei einsetzender Beschallung zunächst zu einer lokalisierten Ödemisierung des Zellkerns kommt, die im Laufe fortdauernder Reizung gleichmäßig auf den gesamten Kernraum übergreift und dadurch die Chromatinklumpen wieder zur Auflösung bringt. Dieser Vorgang läßt sich mit den von ALTMANN^{4,5} 1952 bzw. 1955 geäußerten Vorstellungen über das Verhalten der Chromosomen im "Funktionsformwechsel" des Nucleus in Einklang bringen. Danach soll es bei einsetzender Zellreizung durch Hydratation an denjenigen Chromosomenloci zur Dekondensation und DNS-Ketten-Entspiralisierung (vgl. Abbildung 29) kommen, deren Transkriptionsprodukte die Zelle im Stadium funktioneller Belastung ver-

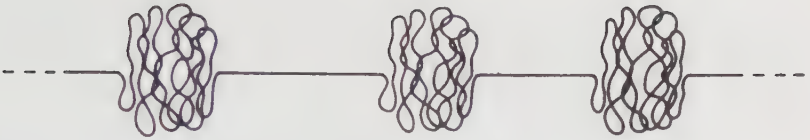


Abbildung 29: Schematische Darstellung der spiralisierten und entspiralisierten Struktur eines DNS-Moleküls (nach CRICK¹⁸, 1971): Die geradlinigen Abschnitte entsprechen entspiralisierten, genetisch aktiven Molekülbezirken, an denen sich Transkriptionsvorgänge abspielen. Die dazwischenliegenden Bereiche, in denen das DNS-Molekül knäuel förmig zusammengefaltet ist, stellen dagegen heterochromatische, stoffwechselinerte Gebiete dar.

mehrt braucht. An der entspiralisierten, freiliegenden DNS-Matrize kommt es somit zu einer gesteigerten Synthese von RNS-Molekülen (vgl. STÖCKER¹⁰⁰, 1962), die aus osmotischen Gründen wiederum einen zusätzlichen Wasserinflux in den Zellkern hervorzurufen vermögen.

Neben dieser Erhöhung des RNS-Gehalts wies STÖCKER¹⁰⁰ autoradiographisch eine Vermehrung von Nicht-Histone-Proteinen im Kern physiologisch stimulierter Zellen des exokrinen Pankreas nach, die eine weitere Ursache für die Hydratation des Nucleus darstellen könnte (vgl. Kapitel 5.1.1.). Entsprechend einer Theorie von CRICK¹⁸ (1971) dürfte außerdem ein Teil der zahlreicher vorhandenen Nicht-Histone-Proteine dazu notwendig sein, die "entzwirnte", einsträngige DNS-Struktur in den euchromatischen Zonen zu ermöglichen und aufrechtzuerhalten. Die Beobachtung von FICQ et al.³⁵ (1958), daß sich nach Zufuhr radioaktiv markierter Aminosäuremoleküle (¹⁴C-Phenylalanin) im Puffbereich, d.h. im Gebiet genetischer Überaktivität von Riesenchromosomen der Dipteren eine deutlich gesteigerte Inkorporation vollzieht, obwohl die mit der DNS in enger Verbindung stehenden

Histonemoleküle kaum eine Einlagerung markierter Aminosäuremoleküle zeigen, kann als Bestätigung der oben erwähnten CRICKschen Theorie gewertet werden.

Die nach kurzfristiger Beschallung zu beobachtenden Chromatinklumpen stellen gemäß diesen Vorstellungen Heterochromatinaggregate dar, die durch den relativ größeren Druck der umliegenden stoffwechselaktiven und daher ödemisierten Bezirke zusammengedrängt werden. Auf die gleiche mechanische Weise läßt sich auch die bevorzugte Anlagerung der Chromatinklumpen an die Innenseite der Kernmembran erklären. Es ist nicht anzunehmen, daß die - sicherlich vorhandene - Transportaktivierung an der Kernhülle die eigentliche Ursache dieses Phänomens darstellt, wie BOCHAROVA et al.¹⁵ (1972) vermuteten, weil das im Elektronenmikroskop sichtbare granuläre Kernmaterial, das bei den kurzbeschallten Tieren vornehmlich in zusammengeballter, klumpiger Form sichtbar wird, im allgemeinen als stoffwechselinaktives Heterochromatin interpretiert wird (vgl. FAWCETT³³, 1973).

Die Tatsache, daß die Klumpenbildung von Chromatin nach langfristiger Stimulation verschwindet, erscheint zunächst nicht verständlich, da es unwahrscheinlich ist, daß nach langfristiger Neuronreizung alle Chromosomenabschnitte in gleichem Ausmaß entspiralisiert und stoffwechselaktiv sind. Dagegen liegt es nahe, die Ursache für die verminderte Chromatinklumpenbildung in einer gleichmäßigen Verteilung der Kernsyntheseprodukte und infolgedessen auch der meisten Wassermoleküle zu suchen. Die nach Langzeitbeschallung deutliche Matrixaufhellung des Nervenzellnucleus im Vergleich zu unbeschallten Tieren weist auf jeden Fall darauf hin, daß der osmotische Druck immer noch gesteigert, d.h. der Kern immer noch stoffwechselaktiver ist als im ungereizten Zustand. In diesem Zusammenhang drängt sich die Erwähnung des lichtmikroskopisch erhobenen Befun-

des auf, daß sich nach zweistündiger Stimulation die Kerngröße auf einem bestimmten Niveau einpendelt. Dieser Vorgang dürfte Ausdruck eines wieder erreichten Gleichgewichtszustandes im zellulären Stoffwechsel sein (vgl. Kapitel 4.1.1. sowie Kapitel 5.1.1.).

Morphologische Äquivalente der erwähnten Transportsteigerung an der Kernhülle stellen sowohl die aufgeweitete perinucleare Cisterne als auch die vermehrt und vergrößert vorhandenen Kernporen dar. Eine Weiterstellung der Membranporen zur Erleichterung des Stofftransports nach adäquater Nervenzellstimulation wurde bereits 1958 von WÜSTENFELD¹¹⁰ postuliert. Aus dem Nucleus heraus werden dabei hauptsächlich die im Kern synthetisierten RNS-Moleküle transportiert, um im Cytoplasma ihre Funktion bei der Eiweißsynthese zu übernehmen, wohingegen in umgekehrter Richtung vornehmlich kleinere Moleküle und anorganische Ionen übertreten, die an den synthetischen Reaktionsschritten im Zellkern beteiligt sind. Entsprechend der Ansicht anderer Autoren (WATSON¹⁰⁶, 1955; HARDING und FELDHER⁴¹, 1958; BARGMANN⁸, 1967) ist anzunehmen, daß einerseits kleinere Moleküle und anorganische Ionen auf dem Wege über das endoplasmatische Retikulum und die mit ihm in Verbindung stehende perinucleare Cisterne ausgetauscht werden und aus osmotischen Gründen zu der beobachteten Cisternenaufweitung führen und daß andererseits hochmolekulare Verbindungen wie die RNS-Moleküle mit Hilfe kontrollierter Transportmechanismen durch die Kernporen gelangen.

Zu klären bleibt noch die Frage, welcher Faktor den Anstoß für die Chromosomenentspiralisierung und die damit verbundene gesteigerte synthetische Aktivität der DNS gibt, deren Syntheseprodukte wiederum der Deckung erhöhter cytoplasmatischer Bedürfnisse nach adäquater Zellstimulation dienen. Untersuchungen von PRIVES und QUASTEL⁸⁸ (1969) sprechen dafür, daß als auslösende Ursache der metabolischen Vorgänge nach Neuronreizung vornehmlich die Veränderungen der intra-

zellulären Natriumkonzentrationen anzusprechen sind. Sie werden durch Permeabilitätssteigerung der Zellmembran für Na^+ -Ionen bei Neuronreizung mit anschließendem Na^+ -Influx in die Zelle hervorgerufen. Die Autoren stützen diese Hypothese hauptsächlich auf die in vitro erhobenen Befunde, daß zum einen Na^+ -Konzentrationserhöhung im inkubierenden Medium eine sehr ähnliche Wirkung auf die Inkorporation von ^{14}C -Uridin in Uridinpolyphosphate und RNS-Moleküle ausübt wie elektrische Stimulation und daß zum anderen der Effekt elektrischer Reizung auf den ^{14}C -Uridineinbau durch Tetrodotoxin verhindert werden kann, das spezifisch die Na^+ -Permeabilitätssteigerung der Membran bei Erregung ausschaltet (STÄMPFLI⁹⁹, 1974). Im Gegensatz zu diesen Befunden stellte GISIGER³⁷ (1971) fest, daß in Tetrodotoxingegenwart der Acetylcholineffekt auf die RNS-Synthese trotz Abwesenheit von Aktionspotentialen fortbesteht und daß weder der Na^+ -Influx bei Nervenzellerregung noch die Membrandepolarisation selbst als auslösende Ursachen für den metabolischen Acetylcholineffekt in Frage kommen können. Es müssen daher Faktoren, die als Folge der Acetylcholin-Rezeptor-Wechselwirkung an der subsynaptischen Membran entstehen und nichts mit elektrischen Membranvorgängen und Ionenkonzentrationsveränderungen zu tun haben, die RNS-Synthese im zugehörigen Ganglienzellkern beeinflussen. Experimente von SHASHOUA⁹⁶ aus dem Jahre 1971 machen es wahrscheinlich, daß das zyklische Adenosin-3',5'-monophosphat, das in den letzten Jahren als Aktivator vieler Enzyme bekannt geworden ist, in noch unbekannter Weise die RNS-Stoffwechselveränderungen nach Nervenzellreizung induziert.

Beide Theorien - sowohl die von PRIVES und QUASTEL⁸⁸ als auch die von GISIGER³⁷ und SHASHOUA⁹⁶ - lassen es verständlich erscheinen, daß die Steigerungsrate der Inkorporation markierter Uridinverbindungen in RNS-Moleküle der Zahl der von den zugehörigen Neuronen produzierten Aktionspotentiale direkt proportional ist (BERRY¹⁰, 1969; BERRY und COHEN¹¹, 1972).

5.2.2. Diskussion der ultrastrukturellen Befunde im Nervenzell- cytoplasma

Als Folge der vermehrten nuclearen Transkriptionstätigkeit und des anschließenden Transports von RNS-Molekülen durch die Kernhülle steigt der RNS-Gehalt des Cytoplasma erheblich an. Dies ist notwendig, um die Deckung des erhöhten cytoplasmatischen Bedarfs an RNS-Molekülen während und nach der Nervenzellreizung zu gewährleisten. Die Vergrößerung der cytoplasmatischen RNS-Menge nach Stimulation wurde an Zellen des exokrinen Pankreas von STÖCKER¹⁰⁰ (1962), an Neuronen von EDSTRÖM und EICHNER^{25,26} (1958, 1960), DYAKONOVA et al.²⁴ (1966) sowie von PETERSON und KERNELL⁸⁵ (1970) nachgewiesen. Im Gegensatz hierzu beobachteten andere Autoren wie ORREGO⁷⁵ (1967) sowie PRIVES und QUADEL⁸⁸ (1969) gleichfalls unter Reizungsbedingungen einen Abfall des zellulären RNS-Gehalts. In Kapitel 2.1. wurde bereits darauf hingewiesen, daß SHASHOUA⁹⁷ (1974) die Ursache der von ORREGO⁷⁵ und von PRIVES und QUADEL⁸⁸ beschriebenen RNS-Verminderung in einer übermäßig starken Ganglienzellreizung sieht, die seiner Ansicht nach dazu führt, daß die gesteigert ablaufenden RNS-Synthesevorgänge dem extrem hohen Verbrauch an RNS-Molekülen nicht nachzukommen vermögen. Es resultiert ein Nettoabfall des RNS-Gehalts, der bisher jedoch nur nach "supramaximaler" elektrischer Reizung bekannt geworden ist. Da in unserer Versuchsreihe die Nervenzellstimulation mit physiologischen Reizungsmethoden (Beschallung) herbeigeführt wurde, besteht keinerlei Veranlassung, auch in unseren kurz- und langdauernd stimulierten Neuronen eine Verminderung des RNS-Gehalts anzunehmen. Daher gehen wir im folgenden von der Voraussetzung einer bilanzmäßigen RNS-Vermehrung nach adäquater Nervenzellstimulation aus.

Aus elektrophoretischen Untersuchungen von PETERSON und KERNELL⁸⁵ (1970) geht hervor, daß die unter Stimulationsbedingungen zusätz-

lich produzierten RNS-Moleküle sowohl ribosomaler als auch nicht-ribosomaler Art sind. Reizungsexperimente von HYDÉN⁴⁹ (1967) sowie von HYDÉN und EGYHÁZI⁵⁰ (1962) zeigten darüberhinaus, daß es während milder Ganglienzellirritation zu keiner Verschiebung der relativen Mengenverhältnisse von ribosomaler (r-), "messenger" (m-) und "transfer" (t-) RNS zueinander kommt, wie es beispielsweise bei Lernexperimenten beobachtet wurde (SHASHOUA⁹⁷, 1974). Vielmehr verursacht elektrische und physiologische Stimulation eine allgemeine Synthesesteigerung aller RNS-Molekülarten ohne Bevorzugung eines bestimmten RNS-Typs.

Die "messenger" (m-) RNS, die als "Negativabdruck" einer bestimmten DNS-Stelle die genaue Information für die Synthese des entsprechenden Eiweißmoleküls enthält, stellt nach ihrer Ausschleusung aus dem Kern die Matrize für den Ablesevorgang bei der Translation dar, wohingegen die "transfer" (t-) RNS, die kleinste aller RNS-Molekülarten, der Aktivierung von Aminosäuren, ihrem Transport an die Ribosomen sowie der Matrizenerkennung dient. Der dritte RNS-Typ, die ribosomale (r-) RNS, baut gemeinsam mit Eiweißkörpern die Ribosomen auf, an denen der eigentliche Translationsvorgang abläuft. Die Funktion der r-RNS-Moleküle ist bis heute noch nicht bekannt.

Aufgrund dieses Funktionsmusters der RNS-Moleküle liegt es nahe, aus dem unter Nervenzellstimulationsbedingungen erhöhten cytoplasmatischen RNS-Gehalt auf eine gesteigerte Proteinsynthese zu schließen. Diese Vermutung findet ihre Bestätigung in den autoradiographischen Untersuchungsergebnissen von STÖCKER¹⁰¹ (1962), APPEL et al.⁶ (1967) und LUX et al.⁶⁷ (1970), die nach Zellreizung einen vermehrten Einbau markierter Aminosäuren in Proteinmoleküle beobachteten und diesem Phänomen eine erhöhte Eiweißsynthese ursächlich zugrundelegten. Als morphologische Äquivalente der erhöhten Translationsaktivität fanden wir eine hochsignifikante Vergrößerung der

relativen Cisternenfläche des rauhen endoplasmatischen Reticulum (ER) nach kurzdauernder und der Gesamtribosomenzahl pro Flächeneinheit nach langfristiger Beschallung. Beide Vorgänge sind jedoch nicht unbedingt mit einer Absolutvermehrung der Cisternen und Ribosomen gleichzusetzen, da sie theoretisch auch durch eine Abnahme der Gesamtcytoplasmafläche hervorgerufen werden können. Aufgrund von Untersuchungen anderer Autoren an gereizten Ganglienzellen (z.B. DYAKONOVA et al.²⁴, 1966; EDSTRÖM und EICHNER²⁵, 1958) muß jedoch eine Vergrößerung des gesamten Cytoplasmavolumens während der Beschallung angenommen werden, so daß die tatsächliche Absolutzunahme der Cisternen und Ribosomen pro Zelle sogar noch größer sein mußte als der Anstieg der relativen Cisternenfläche und der Ribosomenzahl pro Flächeneinheit vermuten läßt.

Neben der absoluten Ribosomenvermehrung nach Langzeitbeschallung vergrößert sich der prozentuale Anteil membrangebundener Funktionsformen an der Gesamtribosomenzahl von weniger als 10 % bei unge reizten Neuronen auf über 20 % bei kurz- und langdauernd stimulierten Ganglienzellen. Entsprechend nimmt die relative Häufigkeit frei im Cytoplasma verteilter Mono- und Polysomen ab. Das in den unge reizten Nervenzellen - verglichen mit anderen Zelltypen - relativ seltene Vorkommen membrangebundener Ribosomen befindet sich in guter Übereinstimmung mit den Angaben von MERITS et al.⁷⁰ (1969) über die prozentuale Häufigkeit membrangebundener Ribosomen an der Gesamtribosomenzahl im Rattengehirn (8,0 bis 19,5 %). Durch ihre relative Vermehrung nach Stimulation nähert sich die Ribosomenverteilung in gereizten Neuronen dem Verteilungsmuster in sezernierenden Zellen an, in denen MERITS et al.⁷⁰ 69% aller Ribosomen in membrangebundener Form vorfanden.

Diese Ergebnisse sagen allerdings noch nichts darüber aus, ob die membrangebundenen Ribosomen ihrerseits als Mono- oder Polysomen

vorliegen. Untersuchungen von APPEL et al.⁶ (1967) könnten hierzu einen Hinweis geben. Die Autoren analysierten unter Zugabe von Desoxycholat, das die Ablösung aller membrangebundenen Ribosomen verursacht, die Veränderungen im Monosomen-Polysomen-Verhältnis nach physiologischer Zellirritation und fanden eine erhebliche Polysomenzunahme unter gleichzeitiger Verminderung der einzeln gelegenen Ribosomen. Da in unseren adäquat gereizten Nervenzellen keine Vermehrung frei im Cytoplasma verteilter Polysomen, sondern lediglich eine relative Zunahme membrangebundener Ribosomen zu erkennen ist, liegt die Vermutung nahe, daß die membranhaftenden Ribosomen, die durch Desoxycholat aus ihrer Bindung befreit werden können, nach Zellstimulation in erhöhtem Maße als Polysomen vorliegen. Es ist daher anzunehmen, daß es bei Beschallungsbeginn einerseits zu einer Drift bereits existenter Polysomen an die Membranen des rauen ER und andererseits zu einer Polysomenbildung durch Aufreihung freier Monosomen an m-RNS-Molekülen und anschließend zur Anheftung dieser Ribosomengruppen an die Cisternenmembranen kommt. Diese Ansicht wird außerdem dadurch untermauert, daß synthetisch tätige Ribosomen immer zu mehreren an eine m-RNS-Kette gekoppelt sind, während der metabolisch inaktive Ruhezustand der Ribosomen morphologisch durch einzeln liegende Ribosomenformen charakterisiert ist (LEONHARDT⁶², 1971).

Die Ursache der Verschiebung frei im Cytoplasma verteilter Mono- und Polysomen an die Membranen der nach kurzdauernder Beschallung bereits zahlreicher vorhandenen Cisternen des rauen ER dürfte darin begründet sein, daß membrangebundene Ribosomen unter Reizungsbedingungen eine wichtigere Rolle für die Zelle spielen als freie Mono- und Polysomen. In diesem Zusammenhang führten NIEVEL und CUMINGS⁷⁴ (1967) Markierungsexperimente mit ¹⁴C-Leucin im Gehirn durch. Sie fanden den weitaus größten Teil der Radioaktivität im Bereich membrangebundener Ribosomen und schlossen daraus, daß die

cerebrale Proteinsynthese hauptsächlich an den membrangebundenen Ribosomen stattfindet. Daher ist es durchaus verständlich, daß die membrangebundenen Ribosomen unter funktioneller Belastung sowohl in Relation zu den freien Mono- und Polysomen als auch absolut gesehen zunehmen, um dem gesteigerten zellulären Bedarf an Proteinen nachkommen zu können. Die frei im Cytoplasma verteilten Mono- und Polysomen deuteten NIEVEL und CUMINGS⁷⁴ ebenso wie ESCHNER und GLEES²⁹ (1963) lediglich als Durchgangsstadium proteinsynthetisierender Einheiten während des individuellen Lebenszyklus und der individuellen Gehirnentwicklung. In ähnlicher Weise stellen sich die freien Mono- und Polysomen in unseren Befunden als "Reserveribosomen" dar, die im Falle erhöhter Nervenzellaktivität an die Cisternenmembranen des rauhen ER wandern, um sich zusätzlich zu den bereits daran haftenden Ribosomen an der Proteinsynthese zu beteiligen.

Von vielen Autoren (BIRBECK und MERCER¹², 1961; PORTER⁸⁶, 1961; ESCHNER und GLEES²⁹, 1963; TAKAGI et al.¹⁰², 1970; DAVID et al.¹⁹, 1970; BOCHAROVA et al.¹⁵, 1972) wird postuliert, daß membrangebundene Ribosomen Proteine synthetisieren, die sezerniert werden sollen, während frei verteilte Ribosomen den zellulären Eigenbedarf an Proteinen abzudecken haben. Diese Unterscheidung kann für Nervenzellen keinesfalls zutreffen, weil sie - mit Ausnahme neurosekretorischer Ganglienzellen im Zwischenhirn - keine Proteine als Sekret abgeben, aber sich dennoch bei funktioneller Belastung durch relative und absolute Zunahme membrangebundener Ribosomen auszeichnen. Daraus geht hervor, daß die an den Membranen des rauhen ER haftenden Ribosomen eine sehr wichtige Rolle bei der Deckung des erhöhten intrazellulären Bedarfs an bestimmten Proteinmolekülen unter den Bedingungen gesteigerter Nervenzellfunktion übernehmen.

Als mögliche Aufgabe membrangebundener Ribosomen in ausgereiften Neuronen nahmen ESCHNER und GLEES²⁹ (1963) die morphologische Co-

dierung von Information über afferente Entladungsmuster an, die die Zelle befähigen soll, in einer bestimmten Sequenz zu entladen. Nach dieser Theorie ließe sich die bei unseren beschallten Tieren beobachtete relative und absolute Zunahme membrangebundener Ribosomen entweder als Codierung der unter Beschallung vermehrt eintreffenden Impulse oder als verstärkte Abrufung früher gespeicherter Engramme deuten.

Einen anderen hypothetischen Mechanismus der Informationsspeicherung im Gehirn (vgl. Abbildung 30) folgerte SHASHOUA⁹⁷ (1974) aus zahlreichen biochemischen Untersuchungen über die RNS-Stoffwechselveränderungen in Stimulations- und Lernexperimenten. Umgebungsreize werden nach dieser Hypothese mit Hilfe von vier hintereinandergeschalteten Transduktionsprozessen, die der Abbildung 30 entnommen werden können, in ein "Signal" molekularer Natur umgewandelt, das die RNS-Synthese in den Nervenzellkernen anzuregen vermag. Sehr wahrscheinlich spielt bei diesem Schritt der Informationsübertragung das zyklische Adenosin-3',5'-monophosphat eine entscheidende Rolle. Die vermehrt produzierten RNS-Moleküle ermöglichen aufgrund ihres Funktionsmusters die Steigerung der nachfolgenden Translationsvorgänge. Die hierbei synthetisierten Proteine bilden - entsprechend der Hypothese von SHASHOUA⁹⁷ - die Grundlage des letzten Schrittes der Informationsspeicherung, der aus Modifikation und Neubildung von Zellmembranen besteht. Es ist erstaunlich, welch ausgezeichnete Bestätigung diese Hypothese, die von SHASHOUA⁹⁷ allein aus biochemischen Befunden ohne morphologische Grundlage abgeleitet wurde, durch unsere elektronenmikroskopischen Aufnahmen unterschiedlich lang stimulierter Nervenzellen des Nucleus cochlearis ventralis findet: Nach kurz- und langdauernder Beschallung kommt es - im Vergleich zu ungereizten Neuronen - zur deutlichen Vermehrung aller membranösen Zellbestandteile. Wie zu erwarten, sind die morphologischen Äquivalente der hierfür notwendi-

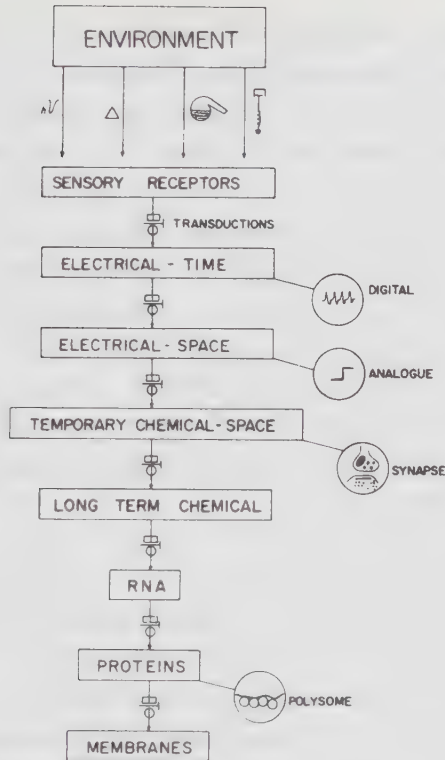


Abbildung 30: Hypothetisches Schema der aufeinanderfolgenden Transduktionsschritte bei der Informationsspeicherung nach SHASHOUA⁹⁷. Umgebungsreize werden zunächst durch vier Transduktionsprozesse in ein molekulares "Signal" (long term chemical) umgewandelt, das den neuronalen RNS-Stoffwechsel zu beeinflussen vermag. Nach weiteren Transduktionsvorgängen kommt es schließlich zur strukturellen Fixierung der Information durch Membranmodifikation und Membranneubildung.

Jeder Transduktionsprozeß besteht aus mehreren Einzelvorgängen und stellt ein vorübergehendes Stadium in der gesamten Kette der Informationsübertragung dar. —— Symbol für einen verallgemeinerten Transduktionsschritt; $h\nu$ Lichtreiz; Δ Hitzereiz;  chemischer Reiz;  mechanischer Reiz. Aus SHASHOUA⁹⁷ (1974).

gen RNS- und Proteinstoffwechselsteigerungen in ausgeprägtem Maße vorhanden: Die Kernmatrix ist aufgeheilt, die Kernporen sind vermehrt und erweitert, die Ribosomen, besonders die membrangebundenen Funktionsformen, treten gehäuft auf. Durch die erwähnte Modifikation und Neubildung von Membranen im letzten Speicherungsschritt werden die Informationen, die das Nervensystem aus Umgebungsreizen erhält, in strukturelle Veränderungen innerhalb der Nervenzellen umgesetzt. Auf diese Weise werden sie Bestand der Nervenzellsubstanz und unterliegen denselben Gesetzen der Regeneration wie alle anderen Hirnstrukturen. In diesem Zusammenhang müßte zukünftig noch geklärt werden, ob und wie sich die Ultrastruktur gereizter Nervenzellen nach einer länger dauernden Ruheperiode im Anschluß an die Stimulation verändert.

Über ihre Funktionen im Rahmen der Informationsspeicherung hinaus dürften die membrangebundenen Ribosomen eine Reihe von Enzymen synthetisieren, die einerseits der Restitution von intra- und extrazellulären Ionenverhältnissen im Anschluß an die reizungsbedingten Membrandepolarisationen dienen und andererseits im Verlauf von verschiedenen, durch die Nervenzellstimulation angekurbelten Stoffwechselvorgängen benötigt werden. Aus autoradiographischen Untersuchungen von LUX et al.⁶⁷ (1970) geht hervor, daß die Radioaktivität bei stimulierten Neuronen nicht nur in den Somata und Dendriten, sondern auch in den Axonen signifikant erhöht ist. Dies bedeutet, daß ein Teil der in den Ganglienzellsomata neusynthetisierten Proteine über die Axone in die präsynaptischen Endigungen gelangt. Nach Untersuchungsergebnissen von DROZ²² (1973) handelt es sich hierbei vornehmlich um Enzyme und Proteine, die an der Neusynthese verbrauchter Transmittersubstanzen in den präsynaptischen Endigungen sowie am Ersatz von Membranuntereinheiten der synaptischen Vesikel und der präsynaptischen Oberflächenmembran beteiligt sind. Sie sollen im schnellen Axoplasmafluß mit einer Geschwindigkeit von

40 bis 400 mm pro Tag (DROZ²², 1973), gelegentlich sogar von mehr als 1000 mm pro Tag (BYERS¹⁶, 1974) in die präsynaptischen Endigungen transportiert werden, während die axoplasmatischen Proteine und die Mitochondrien, die im langsamen axoplasmatischen Strom wandern, lediglich eine Strecke von 1 bis 6 mm pro Tag (DROZ²²) in Richtung auf die Nervenzellendigung zurücklegen. In der präsynaptischen Region selbst sollen nach Angaben von DROZ²² höchstens 2 % der dort vorhandenen Proteine synthetisiert werden.

Es ist anzunehmen, daß zumindest ein Teil der Eiweißkörper, die für die präsynaptischen Endigungen bestimmt sind, im Anschluß an ihre Synthese im Inneren der miteinander kommunizierenden Cisternen des rauhen ER zur GOLGI-Region wandert. Hier werden die Proteinmoleküle weiterverarbeitet und konzentriert, bevor sie ihren Weg in die präsynaptischen Endigungen antreten. Ein derartiger Entstehungs- und Transportmechanismus ist beispielsweise für die Cholinacetylase bekannt, die nach Erreichen der präsynaptischen Region in den Vesikeln die Acetylierung des aus dem Extrazellulärraum aufgenommenen Cholins durchführt (GOODMAN und GILMAN⁴⁰, 1971).

Aufgrund dieser Vorgänge lassen sich einige morphologisch erkennbare Reaktionen cytoplasmatischer Organellen auf die Neuronenreizung hin erklären: Durch die erhöhte Proteinkonzentration in den Cisternen und Tubuli des rauhen ER sowie des GOLGI-Apparates kommt es zum Wasserinflux, und zwar sowohl infolge der vergrößerten Teilchenzahl innerhalb der Cisternen beider Zellorganellen als auch infolge der an Proteinen gehäuft vorhandenen polaren Gruppen mit starker Hydratationstendenz. Die außerdem unter den Bedingungen adäquater Nervenzellstimulation zu beobachtende Absolutvermehrung der Cisternen des rauhen ER und des GOLGI-Apparates mag zum Teil in der Notwendigkeit begründet liegen, die nach Zellreizung zahlreicher

produzierten Eiweißkörper zu speichern und weiter zu verarbeiten. Durch die zahlenmäßige Zunahme sowie die Streckung der zunächst verdickten Cisternen des rauhen ER und der GOLGI-Region ergibt sich eine bessere Durchsetzung des Cytoplasma mit diesen Organellen, so daß die Interaktion zwischen ihnen erleichtert wird. Die bevorzugt parallele Anordnung der Cisternen des rauhen ER sowie der Zusammenschluß einzelner GOLGI-Zonen zu halbkreis-, kreis- oder ellipsenförmigen GOLGI-Komplexen nach langdauernder Stimulation weisen darauf hin, daß eine optimale und effektive Funktion beider Zellorganellen nur durch Kooperation zwischen den einzelnen Bestandteilen gewährleistet werden kann.

Im Zusammenhang mit den in Kapitel 4.2.2. dargestellten stimulationsinduzierten Veränderungen an den cytoplasmatischen Strukturelementen erscheint es wahrscheinlich, daß ein Teil der am rauhen ER produzierten und im GOLGI-Apparat weiterverarbeiteten Proteine in Form von multivesikulären Körperchen in die präsynaptischen Endigungen transportiert wird, um dort ihre Enzymfunktion zu übernehmen. Diese Hypothese wird durch die elektronenmikroskopischen Bilder, die eine direkte Abschnürung multivesikulärer Körperchen aus der GOLGI-Zone vermuten lassen, sowie durch ihr gehäuftes Vorkommen in GOLGI-Apparat-Nähe und ihr offensichtlich vermehrtes Auftreten in allen Neuronabschnitten nach Beschallung nahelegt. Darüberhinaus könnten die multivesikulären Körperchen eine weitere wichtige Rolle im An- oder Abtransport neuer bzw. alter Membranen an den präsynaptischen Endigungen spielen.

Die Hypothese, daß ein Teil der Eiweißkörper, die für die präsynaptischen Endigungen bestimmt sind, in Form von multivesikulären Körperchen dorthin gebracht werden, wird außerdem durch neuere Arbeiten anderer Autoren über den schnellen Axoplasmastrom gestützt. In ihnen widerlegten die Untersucher (DROZ²², 1973; KRYGIER-BRÉVART et

al.⁵⁷, 1974; BYERS¹⁶, 1974; DROZ et al.²³, 1975) die Ansicht, der schnelle Axoplasmastrom vollziehe sich hauptsächlich in den axonalen Mikrotubuli (z.B. PALAY et al.⁷⁶, 1968), und rückten stattdessen die vesikulären und tubulären Elemente des glatten ER als bevorzugte Lokalisation des schnellen axoplasmatischen Flusses in den Vordergrund. In diesem Zusammenhang wiesen DROZ et al.²³ ein axonales System aus Bestandteilen des glatten ER nach, das sich durchgehend vom Perikaryon bis zur Nervenendigung erstreckt. Darüberhinaus vermutet DROZ²², daß die Protein- und Glykoproteidmoleküle nicht nur in Strukturen des glatten ER, sondern auch in Lysosomen eingeschlossen und in ihnen als Bestandteil des schnellen axoplasmatischen Flusses zu den präsynaptischen Endigungen transportiert werden können.

Neben der oben erwähnten Verschiebung frei verteilter Mono- und Polysomen an die Cisternenmembranen des rauhen ER unter Beschallungsbedingungen kommt es sowohl nach kurzdauernder als auch nach langfristiger Stimulation zu einer hochsignifikanten Zunahme der durchschnittlichen Anzahl von Ribosomen, die ein frei im Cytoplasma liegendes Polysom zusammensetzen. Es ist anzunehmen, daß diesem in der Bildebene erhobenen Befund im dreidimensionalen Raum ebenfalls eine Polysomenvergrößerung entspricht. Die im Vergleich zu anderen Körperzellen relativ niedrigen Werte von knapp vier Ribosomen pro Polysom in unbeschalltem und von knapp fünf im langdauernd stimulierten Zustand befinden sich in guter Übereinstimmung mit den Angaben anderer Autoren über die Polysomengröße in Nervenzellen (vgl. Zusammenstellung bei DAVID et al.¹⁹, 1970). DAVID et al.¹⁹ äußerten 1970, das Molekulargewicht des zu synthetisierenden Eiweißmoleküls bestimme die Polysomengröße. Auf unsere Ergebnisse übertragen bedeutet diese Aussage, daß unter Stimulationsbedingungen andere, und zwar hochmolekularere Eiweißkörper produziert würden. Es ist jedoch nicht einzusehen, warum unter Reizungsbedingungen plötzlich

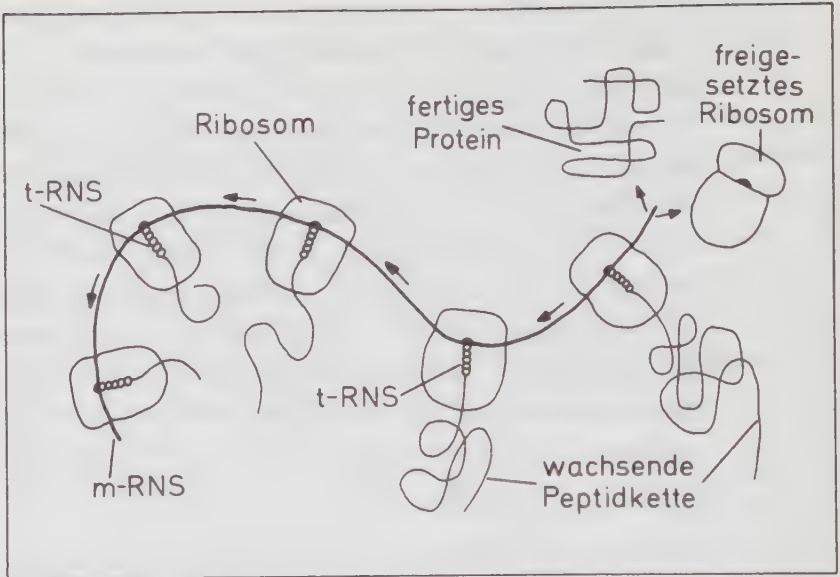


Abbildung 31: Stark vereinfachte Darstellung des Synthesepinzips von Proteinen an einem aus fünf Ribosomen zusammengesetzten Polysom: Die m-RNS-Kette gleitet in der Führungsschiene, die durch die beiden Untereinheiten der einzelnen Ribosomen gebildet wird. An dasjenige Codon (= Basentriplett) der m-RNS, das sich jeweils im Bereich der Kontaktstelle von Ribosomen und m-RNS-Kette befindet, lagert sich das korrespondierende Anticodon eines t-RNS-Moleküls an, welches seinerseits an einem Molekülende spezifisch eine bestimmte Aminosäure gebunden hat. Durch Relativbewegung der m-RNS in der durch Pfeile angegebenen Richtung werden nacheinander verschiedene Codonen aktiviert, denen sich wiederum entsprechende t-RNS-Moleküle mit den jeweils an ihnen haftenden Aminosäuren gegenüberstellen. Auf diese Weise kommen die Aminosäuren in benachbarte Lage und gehen – unter gleichzeitiger Ablösung der t-RNS-Moleküle – untereinander Peptidbindungen ein, wodurch sich Zug um Zug die Proteinkette bildet.

Aus diesem Syntheseprinzip geht hervor, daß die Primärstruktur der produzierten Eiweißmoleküle allein durch die Basensequenz der m-RNS-Kette eindeutig bestimmt wird und daß durch Hinzufügen oder Weglassen eines Ribosoms lediglich die Anzahl der produzierten Proteinmoleküle beeinflusst wird, nicht jedoch die Zusammensetzung und das Molekulargewicht der synthetisierten Eiweißkörper (vgl. Text).

andere Proteinmoleküle als im "Ruhezustand" der Zelle synthetisiert werden sollten, allein weil die durchschnittliche Polysomengröße durch zusätzliche Anheftung eines oder mehrerer Ribosomen an bereits vorhandene, ribosomenbesetzte m-RNS-Ketten zunimmt. Aus Abbildung 31 geht hervor, daß eine Vermehrung der Ribosomenzahl pro Polysom nichts anderes bedeutet, als daß entsprechend mehr Proteinmoleküle derselben Zusammensetzung und desselben Molekulargewichts vom gleichen m-RNS-Molekül abgelesen werden können. Es dürfte daher durch die Vergrößerung der Anzahl der ein Polysom zusammensetzenden Ribosomen lediglich zu einer größeren Effektivität der Translationsvorgänge und zu einer besseren Kapazitätsausschöpfung des proteinsynthetisierenden Systems kommen, ohne daß die Identität der produzierten Moleküle verändert wird.

Aufgrund der im Kern und Cytoplasma gesteigert ablaufenden anabolen Stoffwechselvorgänge benötigen die Neurone beschallter Tiere mehr Energie als diejenigen experimentell nicht beeinflusster Ratten. Untersuchungen von LARRABEE⁵⁹ (1969) zeigten, daß Impulsleitung von Nervenzellen einen sofortigen Anstieg der O_2 -Verbrauchs- und der CO_2 -Abgaberate zur Folge hat. Dabei spricht der vergrößerte Sauerstoffverbrauch für eine Ankurbelung der Endatmung und der damit gekoppelten oxidativen Phosphorylierung, in deren Verlauf ATP als unmittelbare Energiequelle für zahlreiche energieverbrauchende Stoffwechselreaktionen entsteht. Der vermehrte Anfall von CO_2 -Molekülen hingegen kann als Anzeichen eines gesteigerten Substratumsatzes im Zitronensäurezyklus gewertet werden. Da die Enzyme aller drei Reaktionsfolgen - der Endatmung, der oxidativen Phosphorylierung sowie des KREBS-Zyklus - zum überwiegenden Teil in den Mitochondrien lokalisiert sind, kommt es unter den Bedingungen intensiver Impulsleitung zum erhöhten Einstrom oxidierbarer Substrate wie Pyruvat und Glycerin-3-phosphat in die Mitochondrien. Zusammen mit den dort im Reaktionsfolge entstehenden Stoffwechselmetaboliten verursa-

chen sie aus osmotischen Gründen einen H_2O -Influx in die Mitochondrien, der zumindest zum größten Teil die nach Beschallung beobachtete Aufhellung der Mitochondrienmatrix und Aufweitung der intracristalen Räume erklärt. Die Tatsache, daß die Mitochondrienveränderungen im Cytoplasma nach funktioneller Belastung stärker ausgeprägt sind als in den Axonen und präsynaptischen Endigungen, spricht für eine massivere Beanspruchung der perikaryal gelegenen Mitochondrien. Dies könnte allein dadurch bedingt sein, daß der größte Teil der von der Zelle vermehrt durchgeführten Syntheseprozesse im Perikaryon abläuft.

Entsprechende morphologische Reaktionsweisen der Mitochondrien wie Matrixaufhellung und Cristaeaufweitung beschrieben PEHLEMANN und HANKE⁸¹ (1968) im Interrenalorgan von Fröschen unter den Bedingungen erhöhter Zellaktivität, d.h. im speziellen Fall während vermehrter Gluco- und Mineralocorticoidproduktion. Außerdem ist erwähnenswert, daß HARTMANN⁴³ (1956) nach Cortisonanwendung über ein intrazelluläres örtliches Verteilungsmuster unterschiedlich stark veränderter Mitochondrien berichtete - ähnlich wie es in den stimulierten Neuronen unserer beschallten Versuchstiere anzutreffen war: Die Mitochondrien im Perikaryon waren geschwollen und zeichneten sich durch zentrale Vakuolisierung und Cristaeverminderung aus, wohingegen die in Dendriten und Axonen gelegenen Mitochondrien nur in wesentlich geringerem Ausmaße verändert waren. Erheblich ausgeprägtere Mitochondrienschwellungen mit starker Vakuolisierung und deutlicher Cristolyse beobachteten WINKELMANN et al.¹⁰⁹ (1972) an Nervenzellen, die unter Sauerstoffmangel standen. Sie deuteten diese Befunde bereits als Ausdruck einer energetischen Insuffizienz der Ganglienzellen nach Unterbrechung des oxidativen Zellstoffwechsels.

Die Abnahme der Mitochondrienveränderungen nach Langzeitbeschallung

mag durch eine zunehmende Gewöhnung der Zellen an die vermehrte Belastung verursacht sein, wie sie sich auch in den lichtmikroskopischen Befunden abzeichnet (vgl. Kapitel 4.1.). Darüberhinaus dürften die Ansprüche an den Zellstoffwechsel ohnehin geringer werden, wenn sich nach langdauernder Stimulation wieder ein Fließgleichgewichtszustand aller Stoffwechselvorgänge auf einem allerdings höheren Niveau als bei den ungereizten Zellen eingestellt hat und keine Neusynthese von Stoffen zum Zwecke der Vergrößerung ihres Absolutgehalts mehr notwendig ist.

5.2.3. Diskussion der ultrastrukturellen Befunde an den präsynaptischen Endigungen

Um die beschallungsbedingten Veränderungen an den verschiedenen präsynaptischen Endigungstypen erfassen zu können, unterteilten wir die Synapsen im Nucleus cochlearis ventralis - basierend auf den Untersuchungsergebnissen von LENN und REESE⁶¹ (1966) - einerseits in die Gruppe der boutonförmigen Endigungen und andererseits in die der Calyxfortsätze (vgl. Kapitel 3.2.3.3.). LENN und REESE⁶¹ beschrieben die Boutons als regelmäßig geformte, oft dicht nebeneinander liegende präsynaptische Strukturen mit nur einer synaptischen Kontaktstelle zu einem Dendriten oder einem Perikaryon. Daneben beobachteten sie relativ große, längliche Gebilde, die häufig sowohl mit einem Nervenzellkörper als auch mit dessen Dendriten multiple synaptische Kontakte eingehen. Zwischen den einzelnen Kontaktstellen dieser präsynaptischen Elemente finden sich mit gewisser Regelmäßigkeit erweiterte Extrazellulärräume, in die meist Astrozytenfortsätze einstrahlen. LENN und REESE⁶¹ deuteten die durch die genannten Merkmale charakterisierten präsynaptischen Endigungen als Fortsätze der von HELD⁴⁴ (1893) im Nucleus cochlearis

ventralis von Säugetieren beschriebenen Calyces. Fundamentale Bedeutung schrieben die Autoren den Größendifferenzen der synaptischen Vesikel in den verschiedenen Synapsentypen ihres osmiumfixierten Materials zu: Alle calyxförmigen Endigungen enthielten relativ große, die meisten Boutons hingegen signifikant kleinere Vesikel. Darüberhinaus fanden die Untersucher wenige großvesikuläre Boutons, die sie als Schrägschnitte von Calyxfortsätzen oder als Boutons interpretierten, deren Ursprung in "Calyces" liegt.

Untersuchungen von NAKAJIMA⁷¹ (1971) zeigten in Ergänzung zu den Befunden von LENN und REESE⁶¹, daß es eine spezifische Eigenschaft der kleinen, in den meisten Boutons enthaltenen Vesikel ist, nach Formaldehyd- oder Glutaraldehydfixierung eine längliche, ovale Gestalt anzunehmen.

Aus Degenerationsexperimenten von REESE⁹⁴ (1966) geht weiterhin hervor, daß die großvesikulären "Calyces" afferente Axonendigungen aus dem Ganglion spirale cochleae mit exzitatorischer Funktion darstellen. Die kleinvesikulären Boutons dagegen werden von REESE⁹⁴, LENN und REESE⁶¹ sowie von McDONALD und RASMUSSEN⁷⁷ (1969) als präsynaptische Strukturen nichtafferenter Neuriten interpretiert, wobei vornehmlich die rückläufigen, zentrifugalen Fasern aus dem S-förmigen Segment des oberen Olivenkomplexes (RASMUSSEN⁹², 1960; RASMUSSEN⁹³, 1967) in Betracht kommen. Darüberhinaus äußerte NAKAJIMA⁷¹ (1971) die Vermutung, bei den kleinvesikulären Boutons könne es sich außerdem auch um Endigungen langfeuernder hemmender Interneurone handeln.

All diese Vorstellungen decken sich mit der erstmals von UCHIZONO¹⁰⁴ (1965) aufgestellten Hypothese, daß Endigungen, die im formaldehydfixierten Gewebe ovale Vesikel enthalten, über inhibitorische Eigenschaften verfügen, während den unter Formaldehydeinwirkung rund-

vesikulären Endigungen exzitatorische Funktion zuzuschreiben ist. Spätere Arbeiten machten deutlich, daß der Unterschied in der äußeren Vesikelgestalt allein durch den Vorgang der Aldehydfixierung hervorgerufen wird (WALBERG¹⁰⁵, 1966) und daß den in aldehydfixierten Präparaten rund bzw. oval geformten Vesikeln im osmiumtetroxidfixierten Material große bzw. kleine rund konfigurierte Vesikel entsprechen (LARRAMENDI⁶⁰, 1967).

Neben den beiden hauptsächlichen Synapsentypen in aldehydfixiertem Gewebe - den rundvesikulären "Calyces" und den ovalvesikulären Boutons - beobachteten McDONALD und RASMUSSEN⁶⁹ (1971) boutonförmige Endigungen mit runden Vesikeln, die jedoch deutlich kleiner sind als die Vesikel in Calyxfortsätzen. Erstaunlicherweise zeigen einige dieser boutonförmigen Endigungen - ähnlich einem Teil der ovalvesikulären Boutons - positive Acetylcholinesterase-Reaktion und stehen dadurch in auffallendem Gegensatz zu den rundvesikulären afferenten "Calyces", von denen sich kein einziger durch positiven Ausfall der genannten histochemischen Reaktion auszeichnete.

Zusätzlich zu den bisher erwähnten, bereits von anderen Autoren beschriebenen Synapsentypen fanden wir in unseren aldehydfixierten Präparaten ovalvesikuläre "Calyces". Da Calyxfortsätze entsprechend den Ausführungen von REESE⁹⁴ (1966) sowie von LENN und REESE⁶¹ (1966) durch positive Kriterien - wie längliche Form und multiple synaptische Kontaktstellen mit dazwischenliegenden erweiterten Extrazellulärräumen - charakterisiert sind, läßt sich das Auftreten ovalvesikulärer Calyxfortsätze in keinem Fall schnittechnisch erklären. Da sie sich bezüglich ihrer morphometrischen Parameter in keiner Beschallungsstufe signifikant von den rundvesikulären Calyxfortsätzen unterscheiden, liegt es nahe, in ihnen zusätzliche afferente Endigungen anzunehmen. Um darüber jedoch definitiv entscheiden zu können, müßten Degenerationsexperimente durchgeführt

werden. Ob die ovalvesikulären Calyxfortsätze tatsächlich über hemmende Eigenschaften verfügen, wie es nach der Hypothese von UCHIZONO¹⁰⁴ (1965) zu erwarten ist, bleibt solange dahingestellt, bis die inhibitorische Funktion aller ovalvesikulären Endigungen eindeutig bewiesen ist.

Ähnliche Probleme ergeben sich bei der Betrachtung von Boutons mit rund konfigurierten Vesikeln. Da sich ihre Vesikel- und Mitochondrienfüllung erheblich von derjenigen rundvesikulärer Calyxfortsätze unterscheidet, erscheint es nicht gerechtfertigt, ihr Auftreten in Übereinstimmung mit LENN und REESE⁶¹ schnittechnisch zu erklären und die rundvesikulären Boutons als schräggetroffene Calyxfortsätze zu deuten. Einen Hinweis in diesem Sinne gibt auch die von MCDONALD und RASMUSSEN⁶⁹ (1971) beobachtete Acetylcholinesterase-Aktivität bei rundvesikulären boutonförmigen Endigungen, während sie bei rundvesikulären Calyxfortsätzen in keinem einzigen Fall nachgewiesen werden konnte. Die Tatsache, daß die Werte der morphometrischen Parameter rundvesikulärer Boutons nie signifikant von denjenigen ovalvesikulärer Boutons abweichen, läßt hingegen eine ähnliche Strukturierung beider Synapsentypen vermuten. Völlig offen muß allerdings im Moment bleiben, ob es sich bei den rundvesikulären Boutons um zusätzliche afferente Endigungen handelt oder ob sie dem efferenten, zentrifugalen System angehören.

Werden rund- und ovalvesikuläre Boutons bzw. rund- und ovalvesikuläre "Calyces" zu je einer Gruppe zusammengefaßt, so ergeben sich zwischen ihnen im unbeschalteten und kurzdauernd stimulierten Zustand deutliche Unterschiede der Mitochondrien- und Vesikelfüllung. Dies deutet darauf hin, daß es sich bei den Boutons und Calyxfortsätzen um grundsätzlich verschiedene Synapsentypen handelt. Aufgrund des häufigeren Vorkommens von Mitochondrien in Calyxfortsätzen ist für diese ein höherer Energiebedarf als für Boutons anzu-

nehmen. Als Ursache hierfür kommt einerseits eine durchschnittlich höhere Transmissionstätigkeit der "Calyces" in Betracht, die sich morphologisch in den multipel vorhandenen, durch erweiterte Extrazellulärräume funktionell voneinander getrennten synaptischen Kontaktstellen der Calyxfortsätze widerspiegelt. Andererseits kann die stärkere Mitochondrienfüllung der Calyxfortsätze - entsprechend der von NĚMEČEK⁷² (1972) postulierten Korrelation zwischen Mitochondrienzahl und Spontanaktivität - als Anzeichen einer im Vergleich zu den boutonförmigen Endigungen gesteigerten Hintergrundaktivität gewertet werden. Letzteres könnte auch eine Ursache der geringeren Vesikelfüllung in den Calyxfortsätzen sein. Darüberhinaus mag die Vesikelverteilung auf einen weiteren Raum in den relativ großen Calyxfortsätzen zu einer lockeren Vesikelanordnung beitragen.

Unter der Annahme einer Korrelation zwischen Mitochondrienzahl und Spontanaktivität der präsynaptischen Endigungen (NĚMEČEK⁷²) kann gefolgert werden, daß Boutons kaum Hintergrundaktivität aufweisen. Sie sind vielmehr - wie aus ihrer extremen Vesikelspeicherung hervorgeht - darauf eingestellt, bei hohen afferenten Aktivitäten der "Calyces" massiv hemmend einzugreifen, um einer Überlastung des Nucleus cochlearis ventralis und der übergeordneten Hörbahnzentren entgegenzuwirken. Experimentell wird diese Hypothese dadurch untermauert, daß die im ungereizten und kurzdauernd stimulierten Zustand vorhandenen signifikanten Differenzen der relativen Vesikel- und Mitochondrienfläche zwischen Boutons und Calyxfortsätzen nach Langzeitbeschallung verschwinden. Diese Entwicklung kann durch eine steigende Aktivität der Boutons und nachfolgende strukturelle Veränderungen wie Vesikelentleerung und Vesikelzahlverminderung erklärt werden.

In Hinblick auf die differente Strukturierung von Boutons und "Ca-

lyces" im ungereizten Zustand sowie den unterschiedlichen Ursprung der zu beiden Endigungstypen gehörenden Fasern werden die voneinander abweichenden Veränderungsmuster nach adäquater Stimulation verständlich. Die wesentlich ausgeprägtere Vesikelentleerung in den Calyxfortsätzen spricht für eine exzessivere Belastung dieses Endigungstyps bei akut einsetzender Beschallung und läßt sich damit erklären, daß "Calycles" sehr wahrscheinlich Endigungen afferenter Fasern aus dem Ganglion spirale cochleae darstellen (REESE⁹⁴, 1966; LENN und REESE⁶¹, 1966). Daher kommt es in den "Calycles" bei einsetzender Beschallung zu einer so erheblichen Vesikelverminderung, daß nach länger dauernder Stimulation eine physiologische Gegenregulation notwendig wird, die schließlich zu einer Wiederauffüllung der Vesikelspeicher führt. Dies kann entweder durch geringeren Vesikelverbrauch bei gleichbleibender Neusyntheserate oder durch erhöhte Vesikelneubildung bei unverändertem Vesikelverbrauch zustandekommen. Dennoch gelingt es den Zellen nicht, das bei unbeschallten Tieren vorhandene Ausmaß der Vesikelfüllung wiederherzustellen. Vielmehr pendelt sich nach langdauernder Irritation ein Fließgleichgewichtszustand auf einem allerdings niedrigeren Niveau als bei den unbeschallten Tieren ein (vgl. Diagramm 26). Im Gegensatz zu den Calyxfortsätzen setzt die synaptische Aktivität boutonförmiger Endigungen aufgrund ihrer hemmenden Eigenschaften sowie des Ursprungs der zugehörigen Neuriten in übergeordneten Hörbahnstationen (MCDONALD und RASMUSSEN⁶⁹, 1971) bzw. im Nucleus cochlearis ventralis selbst (NAKAJIMA⁷¹, 1971) verzögert, relativ langsam und nicht überschießend ein. Die Vesikelfüllung fällt daraufhin während der ersten ein bis zwei Beschallungsstunden bis zu einem bestimmten Niveau ab, auf dem sie sich dann während der übrigen Stimulationsdauer zu halten vermag.

Da eine erhebliche Vergrößerung der Fläche präsynaptischer Endigungen nach Reizung aufgrund von Fremdbefunden (PYSH und WILEY⁸⁹,

1972; PYSH und WILEY⁹⁰, 1974) ausgeschlossen werden kann, ist die Abnahme der relativen Vesikelfläche und der Vesikelzahl pro Flächeneinheit einer Absolutverminderung der Vesikel nach physiologischer Reizung gleichzusetzen. Bekanntlich führt adäquate Nervenzellstimulation an den chemischen Synapsen der Ganglienzellen zu gesteigerter Transmissionstätigkeit und erhöhtem Transmitterverbrauch. Da unsere morphometrische Auswertung der Strukturen präsynaptischer Endigungen im Stadium physiologischer Nervenzellreizung eine hochsignifikante Abnahme der Vesikelzahl in den präsynaptischen Endigungen ergibt, bestätigen unsere Befunde - ähnlich denen anderer Autoren (z.B. FEHÉR et al.³⁴, 1972; PERRI et al.⁸³, 1972; PYSH und WILEY⁹⁰, 1974; QUILLIAM und TAMARIND⁹¹, 1973; HEUSER und REESE⁴⁷, 1973; EYSEL et al.³⁰, 1974; BIRKS¹³, 1971) - die Hypothese, daß synaptische Vesikel die synaptischen Transmittersubstanzen enthalten. Obwohl die meisten der genannten Untersucher ihre Experimente mit elektrischer, teilweise sogar mit "supramaximaler" elektrischer Stimulation durchführten, fanden sie eine reizungsbedingte Verminderung synaptischer Vesikel, die in manchen Fällen trotz differierender Reizungsbedingungen und differierender Untersuchungsregionen in der gleichen Größenordnung liegt (z.B. BIRKS¹³, 1971) wie bei unseren mit physiologischen Stimulationsmethoden durchgeführten Versuchen. Vielleicht handelt es sich dabei um einen Gleichgewichtszustand, der sich unabhängig von der Stimulationsart bei überschwelliger Irritation nach einer gewissen Zeit einstellt.

Im Gegensatz zur relativen Vesikelfläche ändert sich weder die relative Mitochondrienfläche der Boutons noch die der Calyxfortsätze in statistisch signifikanter Weise. Theoretisch könnte dies durch die ungleichmäßige Mitochondrienverteilung in den präsynaptischen Endigungen und die sich daraus ergebenden hohen Standardabweichungen bedingt sein. Jedoch deutet die Tatsache, daß in den präsynap-

tischen Endigungen - anders als im Perikaryon - auch qualitativ kaum stimulationsinduzierte Mitochondrienveränderungen zu beobachten sind, auf eine relativ geringfügige Beanspruchung und strukturelle Beeinflussung präsynaptisch gelegener Mitochondrien durch die Neuronstimulation hin. Dies mag darin begründet liegen, daß der Großteil der Transmittersynthese im Perikaryon abläuft und die Vesikelmembran bei Vesikelentleerung wahrscheinlich nicht verbraucht, sondern einem ständigen Kreislauf unterworfen wird (BITTNER und KENNEDY¹⁴, 1970; HEUSER und REESE⁴⁷, 1973). Infolgedessen besteht die mitochondriale Funktion in den präsynaptischen Endigungen hauptsächlich in der Energiebeschaffung für die synaptische Transmission und in der Aufrechterhaltung der "Natriumpumpe".

Zwischen die runden und ovalen agranulären Vesikel eingestreut finden sich in einigen präsynaptischen Endigungen, und zwar fast ausschließlich in Boutons größere Vesikel mit verdichtetem, granulärem Zentrum. Wahrscheinlich werden in diesen Vesikeln biogene Amine, insbesondere Noradrenalin gespeichert (PELLEGRINO DE IRALDI⁸², 1963), so daß diejenigen Endigungen, in denen solche "dense-core-vesicles" vorkommen, mindestens zwei verschiedene Transmittersubstanzen enthalten. Allerdings ist die Funktion dieses Vesikeltyps in Kerngebieten wie dem Nucleus cochlearis ventralis, die nicht zum vegetativen Nervensystem gehören, bis heute ungeklärt (vgl. PETERS et al.⁸⁴, 1970).

Außerdem beobachteten wir - ebenso wie andere Autoren (z.B. FRIESEN und KHATTER³⁶, 1971; PYSH und WILEY⁹⁰, 1974) - in allen präsynaptischen Endigungstypen vakuoläre und tubuläre Strukturelemente, die nach funktioneller, insbesondere nach langdauernd anhaltender Belastung der zugehörigen Neurone auffallend häufig in Erscheinung treten. Aufgrund der Umhüllung dieser Strukturen mit einer glatten, einfachen Einheitsmembran und aufgrund ihres elektro-

nenoptisch leeren Aussehens ist anzunehmen, daß es sich um Elemente des glatten endoplasmatischen Reticulum (ER) handelt. Es liegt nahe, ihr Auftreten mit Vorgängen des axoplasmatischen Transports in Verbindung zu bringen, der nach Aussagen neuerer Arbeiten (BYERS¹⁶, 1974; DROZ et al.²³, 1975; KRYGIER-BRÉVART et al.⁵⁷, 1974) nicht an Neurotubuli, sondern zumindest teilweise an Elemente des glatten ER gebunden ist. Gemäß diesen Vorstellungen werden die im Perikaryon synthetisierten Proteine und Proteide zunächst als diskrete Einheiten oder "Pakete" in vesikulären und tubulären Elementen des glatten ER verpackt und in Richtung zur synaptischen Region transportiert, um hier die gespeicherten Substanzen freizugeben. DROZ et al.²³ berichteten sogar über direkte Abschnürungen synaptischer Vesikel von den das Axon durchziehenden Tubuli des glatten ER. Das vermehrte Vorkommen von Elementen des glatten ER in den präsynaptischen Endigungen läßt sich somit als morphologisches Äquivalent eines gesteigerten axoplasmatischen Flusses deuten, der durch den gesteigerten synaptischen Bedarf an Proteinen während der stimulationsinduzierten Transmitterfreisetzung notwendig wird.

Eine weitere Erklärungsmöglichkeit für das Erscheinen von Elementen des glatten ER in der präsynaptischen Region bietet die Zirkulationshypothese der Vesikelmembran von HEUSER und REESE⁴⁷ (1973), die die Autoren aufgrund von Befunden an der neuromuskulären Endplatte von Fröschen aufstellten. Sie besagt, daß die synaptischen Vesikel ihre Transmittersubstanzen exocytotisch entleeren, wobei die Vesikelmembran mit der präsynaptischen Oberflächenmembran verschmilzt. Anschließend wird die Vesikelmembran in Form von "coated vesicles" wieder ins Axoplasma zurückgeführt. Im nächsten Schritt der Zirkulationsvorgänge fusionieren die "coated vesicles" und bilden Cisternen, die typischerweise von glatten, einfachen Einheitsmembranen umschlossen werden. Schließlich entstehen durch Teilung

der Cisternen synaptische Vesikel. Eine Untermauerung erfahren diese Befunde durch Untersuchungen von BITTNER und KENNEDY¹⁴ (1970), die einen Ersatz der Membran entleerter Vesikel mittels Neusynthese aus energetischen Gründen für unwahrscheinlich halten. Daher läßt sich aus den genannten Vorgängen folgern, daß das gehäufte Vorkommen von Elementen des glatten ER - besonders nach Langzeitbeschallung - auch im Zusammenhang mit verstärkt ablaufenden Transmissionsprozessen stehen könnte. Dabei sind die Cisternen als morphologischer Ausdruck einer vermehrten Vesikelwiederentstehung aus der präsynaptischen Oberflächenmembran anzusehen, wie sie nach erheblicher Transmitterfreisetzung und dadurch bedingter Vesikelmembraninkorporation in die Oberflächenmembran notwendig wird.

6. ZUSAMMENFASSUNG

6.1. Zusammenfassung der lichtmikroskopischen Ergebnisse

Albinoratten jugendlichen Alters und weiblichen Geschlechts wurden jeweils 0,5 h, 1 h, 2 h, 4 h, 8 h sowie 24 h einem Klingelgeräusch der Schallstärke 98 dB und des Frequenzbereichs von 100 bis 20 000 Hz ausgesetzt. Ein Tier blieb ungereizt, um als Kontrolle zu dienen. Die lichtmikroskopische Auswertung erfolgte mit karyometrischen Methoden an Ganglienzellkernen der Nuclei cochleares ventralis et dorsalis. Anschließend wurden die erhaltenen Häufigkeitsverteilungskurven der Kernvolumina mit Hilfe eines elektronischen "curve resolver" in normalverteilte Einzelkollektive zerlegt, die als biologisch einheitliche Nucleuspopulationen anzusehen sind. Die sich ergebenden Befunde sind auf die reizungsbedingte, funktionelle Neuronbelastung zurückzuführen. Sie schlägt sich hauptsächlich in einem rhythmischen Wachstumsprozeß der Zellkerne nieder.

- I. Unter den Bedingungen adäquater Reizung kommt es an den Ganglienzellkernen zu einer Voluminsteigerung um maximal etwa 250 % gegenüber nicht stimulierten Nervenzellen. Dieser Vorgang wird als morphologisches Äquivalent gesteigerter metabolischer Aktivität in den Ganglienzellen gewertet.
- II. Der Anstieg der Kernvolumina verläuft keineswegs linear zur Beschallungsdauer, sondern zeigt einen typischen stufenweisen bis wellenförmigen Verlauf im Sinne "rhythmischer Kernpulsationen".
- III. Bei der statistischen Zusammenfassung der Einzelergebnisse entsprechend der Ganglienzellokalisation in den Nuclei

cochleares sind kaum Unterschiede in der Reaktionsweise dorsomedial, intermedial und ventrolateral gelegener Kerne zu beobachten. Dies bedeutet, daß die Zellkerne des Nucleus cochlearis ventralis und des Nucleus cochlearis dorsalis sehr ähnlich auf adäquate Reizung reagieren. Dagegen weisen die Zellkerne längs der caudocranialen Ausdehnung des Kerngebiets deutliche Differenzen im zeitlichen Verlauf der Kernvoluminavergrößerungen auf.

IV. Bei der analytisch verfeinerten Auswertung der Häufigkeitsverteilungskurven mit Hilfe eines elektronischen "curve resolver" (Abbildung 32) ergab sich die Bestätigung der JACOBSschen und HERTWIGschen Hypothesen, die von den genannten Autoren lediglich für ruhende, experimentell nicht beeinflusste Zellkerne aufgestellt wurden. Darüberhinaus konnte der Gültigkeitsbereich dieser Hypothesen auf adäquat gereizte Neurone mit unterschiedlicher Stimulationsdauer ausgedehnt werden (vgl. Abbildung 32).

V. Die beiden früher für unabhängig voneinander gehaltenen und bezüglich ihrer Entstehung so verschieden interpretierten Wachstumsreihen JACOBSs ($1 : 2 : 4 \dots$) und HERTWIGs ($1\sqrt{2} : 2\sqrt{2} : 4\sqrt{2} \dots$) wurden auf eine einzige geometrische Folge der allgemeinen Form $a_n = k q^n$ mit $q = \sqrt{2}$ reduziert. Verallgemeinernd ergibt sich daraus für die Kernvolumina ein rhythmisches Wachstum mit dem Faktor $\sqrt{2}$. Wahrscheinlich liegt diesem Phänomen primär ein periodisches Oberflächenwachstum in Verdopplungsschritten zugrunde.

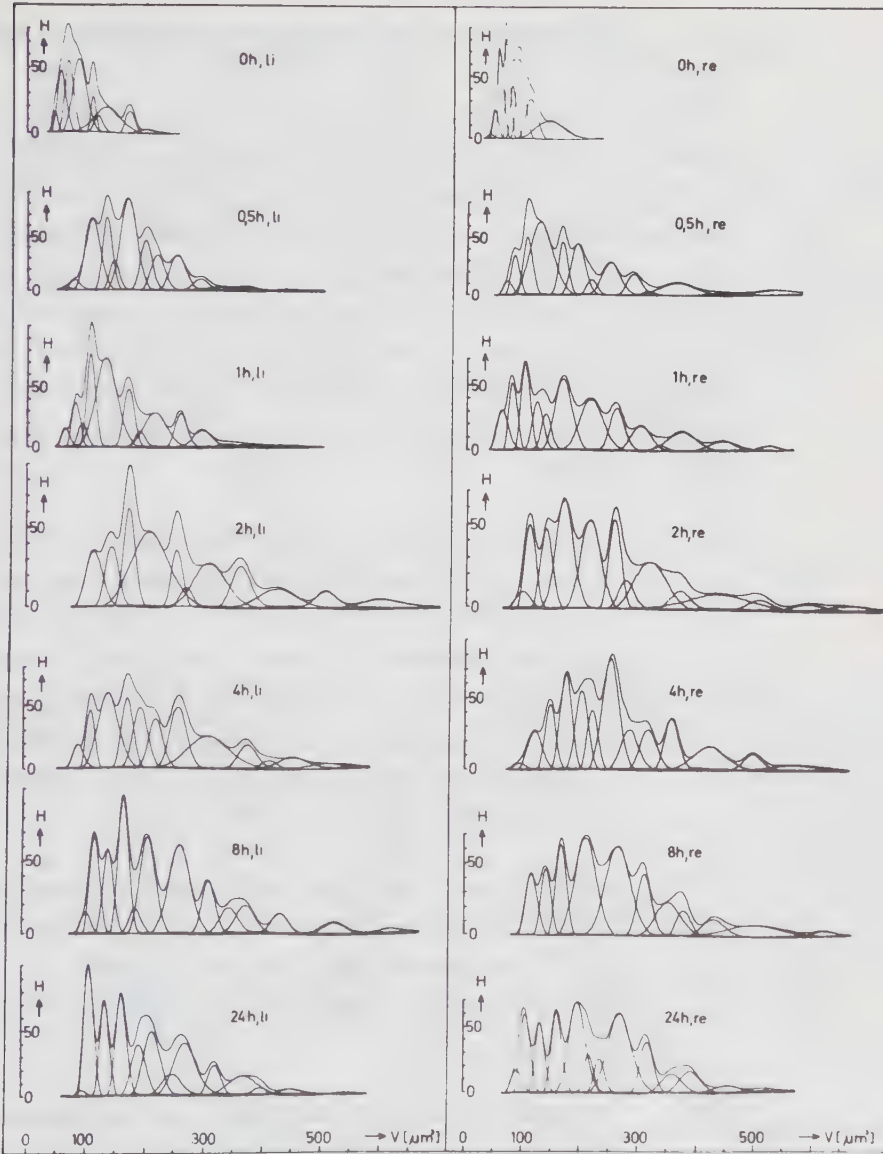


Abbildung 32: Häufigkeitsverteilungskurven (Umhüllende) und ihre Zerlegung in normalverteilte Einzelkollektive. Abszisse: Zellkernvolumina in μm^3 ; re = rechte Nuclei cochleares; li = linke Nuclei cochleares; Zeitangaben: Beschallungsdauer in Stunden.

6.2. Zusammenfassung der elektronenmikroskopischen Ergebnisse

Weiße Ratten wurden jeweils 40 min, 1 h, 2 h, 7,5 h und 24 h durch eine Klingel mit der Schallstärke 98 dB bei einem Frequenzspektrum von 100 bis 20 000 Hz gereizt. Drei Tiere blieben unbeschallt und dienten als Kontrolle. Vom Nervengewebe des Nucleus cochlearis ventralis jeder Ratte wurden elektronenmikroskopische Aufnahmen angefertigt. Bei der qualitativen und morphometrisch-quantitativen Auswertung der neuronalen Strukturen in diesen elektronenoptischen Bildern ergaben sich Befunde (Abbildung 33), die Einblick in das Stoffwechsel- und Transmissionsgeschehen nach adäquater Nervenzellreizung gewähren.

- I. Die trübkörnigen Nervenzellkerne unstimulierter Tiere verlieren nach Beschallung an Elektronendichte und hellen sich auf (vgl. Abbildungen 33 a, 33 b, 33 d). Das granulär-filamentöse Chromatin klumpt deutlich zusammen (vgl. Abbildungen 33 a, 33 b). Beide Phänomene sind Ausdruck eines gesteigerten Kernstoffwechsels, dessen hauptsächliche Aufgabe die vermehrte Synthese von RNS-Molekülen sein dürfte.
- II. Morphologische Äquivalente aktivierter Transportvorgänge an der Kernhülle sind einerseits die vergrößerten und zahlreicher vorhandenen Kernporen, andererseits die verbreiterten perinuclearen Cisternen (vgl. Abbildungen 33 a, 33 b, 33 c).
- III. Im Ganglienzellcytoplasma zeigen sich reizungsbedingte Reaktionen am rauen ER, am GOLGI-Apparat und an den Mitochondrien (vgl. Abbildungen 33 a, 33 b, 33 c, 33 d): Die Cisternen des rauen ER werden bei einsetzender Beschallung aufgeweitet, im Verlauf zunehmender Stimula-

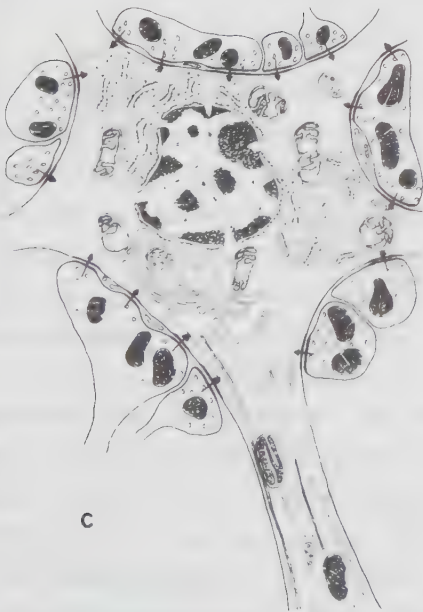
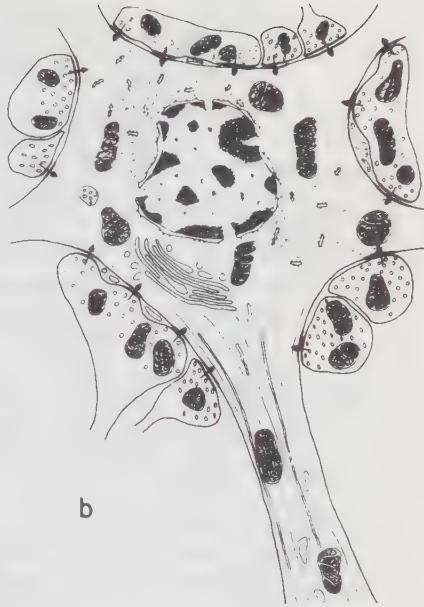
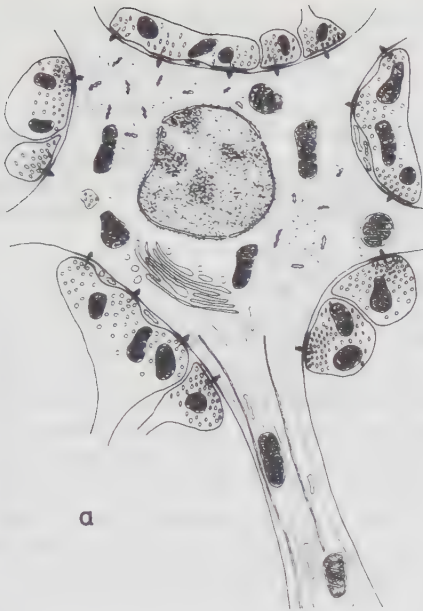


Abbildung 33

Abbildung 33: Zusammenfassende Darstellung der wichtigsten ultrastrukturellen Äquivalente gesteigerter Stoffwechsel- und Transmissionstätigkeit nach adäquater Neuronreizung (vgl. Text).

a. Eben einsetzende Beschallung führt im Nucleus cochlearis ventralis zu erhöhter Transmissionstätigkeit an den Calyxfortsätzen und an den Boutons (Pfeile). Das morphologische Erscheinungsbild der Nervenzellorganellen und der präsynaptisch gelegenen Strukturen entspricht dem ungereizten Zustand neuronaler Strukturelemente im Nucleus cochlearis ventralis.

b. Erste Phase kurzdauernder Beschallung: Infolge gesteigerter Signalübertragung (Pfeile) kommt es zur Vesikelentleerung in den präsynaptischen Endigungen sowie zu Änderungen der Nucleusstruktur.

c. Zweite Phase kurzdauernder Beschallung: Die anhaltende Nervenzellreizung hat außer den in b. dargestellten Auswirkungen auf das elektronenmikroskopische Bild präsynaptischer und nuclearer Strukturelemente Einfluß auf die Ultrastruktur der Cisternen des rauen ER und des GOLGI-Apparates sowie der Mitochondrien im Perikaryon.

d. Langdauernde Beschallung verursacht - im Vergleich zu kurzdauernd gereizten Neuronen - weitere Veränderungen an den Strukturen präsynaptischer Endigungen, am Ganglienzellkern, am rauen ER, am GOLGI-Apparat sowie an den Mitochondrien des Perikaryon.

tionsdauer sind sie verlängert und darüberhinaus zahlenmäßig vermehrt. Gleichzeitig kommt es zur Verschiebung frei im Cytoplasma verteilter Mono- und Polysomen an die Cisternenmembranen des rauen ER sowie zur Absolutvermehrung der Ribosomen. Diese Veränderungen lassen sich unter dem Aspekt eines gesteigerten cytoplasmatischen Proteinmetabolismus zum Zwecke der Informationsspeicherung und der Enzymneusynthese deuten. Als Ausdruck erhöhter Aktivität der proteinverarbeitenden Vorgänge kann die nach Beschallung zu beobachtende Erweiterung der GOLGI-Cisternen gewertet werden. Die vergrößerte Energieproduktion der Mitochondrien, die zur Aufrechterhaltung der angekurbelten zellulären Stoffwechselprozesse notwendig ist, schlägt sich hingegen in mitochondrialen Verände-

rungen wie Matrixaufhellung sowie intra- und intercrystalaler Vakuolenbildung nieder.

- IV. Das nach Nervenzellreizung vermehrte Vorkommen von multivesikulären Körperchen im gesamten Neuronbereich sowie von Elementen des glatten ER im Axonbereich und in der präsynaptischen Region (vgl. Abbildungen 33 a, 33 c, 33 d) ist möglicherweise morphologisches Äquivalent eines gesteigerten Axoplasmaflusses.
- V. Stimulationsbedingt findet sich an den präsynaptischen Endigungen aller Synapsentypen des Nucleus cochlearis ventralis eine erhebliche Verminderung der Vesikelfüllung als Folge einer vermehrten Transmissionstätigkeit (vgl. Abbildungen 33 a, 33 c, 33 d). Dagegen lassen die präsynaptisch gelegenen Mitochondrien - im Gegensatz zu den Mitochondrien des Perikaryon und der Dendriten - weder in qualitativer noch in quantitativer Hinsicht eine beschallungsinduzierte Reaktion erkennen.

7. LITERATURVERZEICHNIS

- 1 ADES, H.W., Central auditory mechanisms. In FIELD, J. (Ed.), Handbook of Physiology, Sect. I, Vol. I, American Physiological Society, Washington, D.C., 1959, 585 - 613.
- 2 ALFERT, M., Variations in cytochemical properties of cell nuclei, Exp. Cell Res. Suppl. 6 (1958) 227 - 235.
- 3 ALFERT, M., BERN, H.A. and KAHN, R.H., Hormonal influence on nuclear synthesis, Acta anat. (Basel) 23 (1955) 185 - 205.
- 4 ALTMANN, H.W., Über den Funktionsformwechsel des Kernes im exokrinen Gewebe des Pankreas, Z. Krebsforsch. 58 (1952) 632 - 645.
- 5 ALTMANN, H.W., Zur Morphologie der Wechselwirkung von Kern und Cytoplasma, Klin. Wschr. 33 (1955) 306 - 314.
- 6 APPEL, S.H., DAVIS, W. and SCOTT, S., Brain polysomes: Response to environmental stimulation, Science 157 (1967) 836 - 838.
- 7 ATWOOD, H.L., LANG, F. and MORIN, W.A., Synaptic vesicles: Selective depletion in crayfish excitatory and inhibitory axons, Science 176 (1972) 1353 - 1355.
- 8 BARGMANN, W., Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1967, 25.
- 9 BENNINGHOFF, A., Funktionelle Kernschwellung und Kernschrumpfung, Anat. Nachr. 1 (1950) 50 - 52.
- 10 BERRY, R.W., Ribonucleic acid metabolism of a single neuron: Correlation with electrical activity, Science 166 (1969) 1021 - 1023.
- 11 BERRY, R.W. and COHEN, M.J., Synaptic stimulation of RNA metabolism in the giant neuron of Aplysia californica, J. Neurobiol. 3 (1972) 209 - 222.
- 12 BIRBECK, M.S.C. and MERCER, E.H., Cytology of cells which synthesize protein, Nature (Lond.) 189 (1961) 558 - 560.
- 13 BIRKS, R.J., Effects of stimulation on synaptic vesicles in sympathetic ganglia, as shown by fixation in the presence of Mg^{2+} , J. Physiol. (Lond.) 216 (1971) 26 P - 28 P.

- 14 BITTNER, G.D. and KENNEDY, D., Quantitative aspects of transmitter release, *J. Cell Biol.* 47 (1970) 585 - 592.
- 15 BOCHAROVA, L.S., BOROVYAGIN, V.L., DYAKONOVA, T.L., WARTON, S.S. and VEPRINTSEV, B.N., Ultrastructure and RNA synthesis in a molluscan giant neuron under electrical stimulation, *Brain Research* 36 (1972) 371 - 384.
- 16 BYERS, M.R., Structural correlates of rapid axonal transport: Evidence that microtubules may not be directly involved, *Brain Research* 75 (1974) 97 - 113.
- 17 CHOW, K.L., Numerical estimates of the auditory central nervous system of the rhesus monkey, *J. comp. Neurol.* 95 (1951) 159 - 175.
- 18 CRICK, F., General model for the chromosomes of higher organisms, *Nature (Lond.)* 234 (1971) 25 - 27.
- 19 DAVID, H., KÖHLER, W., SCHALDACH, J., MARX, J. und DAVID, E., Verhalten und Verteilung freier und membrangebundener Ribosomen und Polysomen in Neuronen des ZNS von Meerschweinchen. II. Quantitative mathematisch-statistische Ergebnisse, *Acta biol. med. germ.* 25 (1970) 659 - 670.
- 20 DELESSE, M.A., Procédé mécanique pour déterminer la composition des roches, *C. R. Acad. Sci. (Paris)* 25 (1847) 544 ff.
- 21 DE ROBERTIS, E. and VAZ FERREIRA, A., Submicroscopic changes of the nerve endings in the adrenal medulla after stimulation of the splanchnic nerve, *J. biophys. biochem. Cytol.* 3 (1957) 611 - 614.
- 22 DROZ, B., Renewal of synaptic proteins, *Brain Research* 62 (1973) 383 - 394.
- 23 DROZ, B., RAMBOURG, A. and KOENIG, H.L., The smooth endoplasmic reticulum: Structure and role in the renewal of axonal membrane and synaptic vesicles by fast axonal transport, *Brain Research* 93 (1975) 1 - 13.
- 24 DYAKONOVA, T.L., VEPRINTSEV, B.N., CHAPAS, A.F. and BRODSKII, V.Y., Induction of RNA synthesis in neurons by electrical activity, *Fed. Proc.* 25 (1966) 901 - 906.
- 25 EDSTRÖM, J.E. und EICHNER, D., Quantitative Ribonukleinsäureuntersuchungen an den Ganglienzellen des N. supraopticus der

Albino-Ratte unter experimentellen Bedingungen (Kochsalzbelastung), Z. Zellforsch. 48 (1958) 187 - 200.

- 26 EDSTRÖM, J.E. und EICHNER, D., Qualitative und quantitative Ribonukleinsäureuntersuchungen an den Ganglienzellen der Nn. supraopticus und paraventricularis der Ratte unter normalen und experimentellen Bedingungen (Kochsalzbelastung), Anat. Anz. 108 (1960) 312 - 319.
- 27 EDSTRÖM, J.E. and GRAMPP, W., Nervous activity and metabolism of ribonucleic acids in the crustacean stretch receptor neuron, J. Neurochem. 12 (1965) 735 - 741.
- 28 ELIAS, H., HENNIG, A. and SCHWARTZ, D.E., Stereology: Applications to biomedical research, Physiol. Rev. 51 (1971) 158 - 200.
- 29 ESCHNER, J. and GLEES, P., Free and membrane-bound ribosomes in maturing neurones of the chick and their possible functional significance, Experientia (Basel) 19 (1963) 301 - 303.
- 30 EYSEL, U.Th., GRÜSSER, O.J. and SAAVEDRA, J.P., Signal transmission through degenerating synapses in the lateral geniculate body of the cat, Brain Research 76 (1974) 49 - 70.
- 31 FAUTREZ, J., Correlation between DNA content and volume of individual nuclei in different tissues of the rat, Nature (Lond.) 178 (1956) 548 - 549.
- 32 FAUTREZ, J., PISI, E. and CAVALLI, G., DNA content of the nucleus and nuclear volume, Nature (Lond.) 176 (1955) 311 - 312.
- 33 FAWCETT, D.W., Atlas zur Elektronenmikroskopie der Zelle, Urban und Schwarzenberg, München, Berlin, Wien, 1973, 2 - 48.
- 34 FEHÉR, O., JOÓ, F. and HALÁSZ, N., Effect of stimulation on the number of synaptic vesicles in nerve fibers and terminals of the cerebral cortex in the cat, Brain Research 47 (1972) 37 - 48.
- 35 FICQ, A., PAVAN, C. and BRACHET, J., Metabolic processes in chromosomes, Exp. Cell Res. Suppl. 6 (1958) 105 - 114.
- 36 FRIESEN, A.J.D. and KHATTER, J.C., Effect of stimulation on synaptic vesicles in the superior cervical ganglion of the cat, Experientia (Basel) 27 (1971) 285 - 287.

- 37 GISIGER, V., Triggering of RNA synthesis by acetylcholine stimulation of the postsynaptic membrane in a mammalian sympathetic ganglia, *Brain Research* 33 (1971) 139 - 146.
- 38 GISIGER, V. and GAIDE-HUGUENIN, A.C., Effect of preganglionic stimulation upon RNA synthesis in the isolated sympathetic ganglion of the rat. In AKERT, K. and WASER, P.G. (Eds.), *Mechanisms of synaptic transmission, Progress in Brain Research*, Vol. 31, Elsevier, Amsterdam, 1969, 125 - 129.
- 39 GOLDSTEIN, L., Localization of nucleus-specific protein as shown by transplantation experiments in amoeba proteus, *Exp. Cell Res.* 15 (1958) 635 - 637.
- 40 GOODMAN, L.S. and GILMAN, A., *The pharmacological basis of therapeutics*, The Macmillan Company, London, Toronto, 4. ed., 2. print, 1971, 415.
- 41 HARDING, C.V. and FELDHERR, C., Semipermeability of the nuclear membrane, *Nature (Lond.)* 182 (1958) 676 - 677.
- 42 HARTMANN, J.F., Electron microscopy of mitochondria in the central nervous system, *J. biophys. biochem. Cytol. Suppl.* 2 (1956) 375 - 378.
- 43 HARTZENDORF, G., WÜSTENFELD, E. und NEUBERT, K., Experimentelle Untersuchungen über die Ansprechbarkeit der Kerne innerer Haarzellen im Cortischen Organ von Meerschweinchen, *Z. mikr.-anat. Forsch.* 67 (1961) 313 - 330.
- 44 HELD, H., Die centrale Gehörleitung, *Arch. Anat. Physiol.* 1893, 201 - 248.
- 45 HERTWIG, G., Abweichungen von dem Verdopplungswachstum der Zellkerne und ihre Deutung, *Anat. Anz.* 87 (1938/9, Erg.-Heft) 65 - 73.
- 46 HERTWIG, G., Der volumetrische Nachweis von Verdopplungs- und Zwischenklassen an den Zellkernen des Zentralnervensystems des Menschen, *Z. mikr.-anat. Forsch.* 51 (1942) 87 - 107.
- 47 HEUSER, J.E. and REESE, T.S., Evidence for recycling of synaptic vesicle membrane during transmitter release at the frog neuromuscular junction, *J. Cell Biol.* 57 (1973) 315 - 344.
- 48 HILLER, G., Theoretische und methodische Grundlagen der Kernmessung, *Z. mikr.-anat. Forsch.* 72 (1965) 317 - 343.

- 49 HYDÉN, H.V., RNA in brain cells. In QUARTON, G.C., MELNECHUK, T. and SCHMITT, F.O. (Eds.), The neurosciences, a study program, The Rockefeller University Press, New York, 1967, 248 - 266.
- 50 HYDÉN, H.V. and EGYHÁZY, E., Nuclear RNA changes of nerve cells during a learning experiment in rats, Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 48 (1962) 1366 - 1373.
- 51 JACOBJ, W., Über das rhythmische Wachstum der Zellen durch Verdopplung ihres Volumens, Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. 106 (1925) 124 - 192.
- 52 JACOBJ, W., Volumetrische Unterschiede der Zellen des Menschen und das allgemeine Problem der Zellgröße, Anat. Anz. 72 (1931, Erg.-Heft) 236 - 247.
- 53 KEIDEL, W.D., Kurzgefaßtes Lehrbuch der Physiologie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1973.
- 54 KRANTZ, H., Reaktion der Zellkerne auf Narkotika, Z. Naturforsch. 2 b (1947) 428 - 433.
- 55 KRANTZ, H., Die Kerngröße und ihre Abhängigkeit von äußeren und inneren Faktoren, Z. Zellforsch. 35 (1951) 425 - 475.
- 56 KRIEG, W.J.S., Functional neuroanatomy, The Blakiston Company, Philadelphia, Toronto, 1947, 144 pp.
- 57 KRYGIER-BRÉVART, V., WEISS, D.G., MEHL, E., SCHUBERT, P. and KREUTZBERG, G.W., Maintenance of synaptic membranes by the fast axonal flow, Brain Research 77 (1974) 97 - 110.
- 58 LANGE, K.H., Über die Hypertrophie der glatten Muskulatur, Morph. Jb. 84 (1940) 363 - 402.
- 59 LARRABEE, M.G., Metabolic effects of nerve impulses and nerve-growth factor in sympathetic ganglia. In AKERT, K. and WASER, P.G. (Eds.), Mechanisms of synaptic transmission, Progress in Brain Research, Vol. 31, Elsevier, Amsterdam, 1969, 95 - 110.
- 60 LARRAMENDI, L.M.H., FICKENSCHER, L. and LEMKEY-JOHNSTON, N., Synaptic vesicles of inhibitory and excitatory terminals in the cerebellum, Science 156 (1967) 967 - 969.
- 61 LENN, N.J. and REESE, T.S., The fine structure of nerve endings in the nucleus of the trapezoid body and the ventral

- cochlear nucleus, *Amer. J. Anat.* 118 (1966) 375 - 390.
- 62 LEONHARDT, H., *Histologie und Zytologie des Menschen*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1971, 39.
- 63 LEUCHTENBERGER, C. and SCHRADER, F., Relationship between nuclear volumes, amount of intranuclear proteins and DNA in various rat cells, *Biol. Bull.* 101 (1951) 95 - 98.
- 64 LOUD, A.V., A method for the quantitative estimation of cytoplasmic structures, *J. Cell Biol.* 15 (1962) 481 - 487.
- 65 LUDI, P., Kernvolumetrische Untersuchungen an Ganglienzellen im Rauten- und Mittelhirn des Menschen, *Z. Zellforsch.* 36 (1951) 476 - 502.
- 66 LUSE, S.A., Electron microscopic observations of the central nervous system, *J. biophys. biochem. Cytol.* 2 (1956) 531 - 542.
- 67 LUX, H.D., SCHUBERT, P., KREUTZBERG, G.W. and GLOBUS, A., Excitation and axonal flow: Autoradiographic study on motoneurons intracellularly injected with a ^3H -amino acid, *Exp. Brain Res.* 10 (1970) 197 - 204.
- 68 MCDONALD, D.M. and RASMUSSEN, G.L., Association of acetylcholinesterase with one type of synaptic endings in the cochlear nucleus: An electron microscopic study, *Anat. Rec.* 163 (1969) 228.
- 69 MCDONALD, D.M. and RASMUSSEN, G.L., Ultrastructural characteristics of synaptic endings in the cochlear nucleus having acetylcholinesterase activity, *Brain Research* 28 (1971) 1 - 18.
- 70 MERITS, I., CAIN, J.C., RDZOK, E.J. and MINARD, F.N., Distribution between free and membrane-bound ribosomes in rat brain, *Experientia (Basel)* 25 (1969) 739 - 740.
- 71 NAKAJIMA, Y., Fine structure of the medial nucleus of the trapezoid body of the bat with special reference to two types of synaptic endings, *J. Cell Biol.* 50 (1971) 121 - 134.
- 72 NĚMEČEK, S., Principles of synaptic ultrastructure in the CNS, Collection of scientific works of the faculty of medicine, Charles University at Hradec Králové, Vol. 15, Nr. 3, 1972, 252 - 257.

- 73 NEUBERT, K. und WÜSTENFELD, E., Nachweis der zellulären Ansprechgebiete im Innenohr, *Naturwissenschaften* 42 (1955) 350 - 351.
- 74 NIEVEL, J.G. and CUMINGS, J.N., Nissl substance and ribosomal aggregates, *Nature (Lond.)* 214 (1967) 1123 - 1124.
- 75 ORREGO, F., Synthesis of RNA in normal and electrically stimulated brain cortex slices in vitro, *J. Neurochem.* 14 (1967) 851 - 858.
- 76 PALAY, S.L. and PALADE, G.E., The fine structure of neurons, *J. biophys. biochem. Cytol.* 1 (1955) 69 - 88.
- 77 PALAY, S.L., SOTELO, C., PETERS, A. and ORKAND, P.M., The axon hillock and the initial segment, *J. Cell Biol.* 38 (1968) 193 - 201.
- 78 PALKOVITS, M. and FISCHER, J., Karyometric investigations, *Akadémiai Kiadó, Budapest*, 1968, 37 - 101.
- 79 PÁRDU CZ, Á. and FEHÉR, O., Fine structural alterations of pre-synaptic endings in the superior cervical ganglion of the cat after exhausting preganglionic stimulation, *Experientia (Basel)* 26 (1970) 629 - 630.
- 80 PÁRDU CZ, Á., FEHÉR, O. and JOÓ, F., Effects of stimulation and hemicholinium (HC-3) on the fine structure of nerve endings in the superior cervical ganglion of the cat, *Brain Research* 34 (1971) 61 - 72.
- 81 PEHLEMANN, F.W. und HANKE, W., Funktionsmorphologie des Interrenalorgans von *Rana temporaria* L., *Z. Zellforsch.* 89 (1968) 281 - 302.
- 82 PELLEGRINO DE IRALDI, A., FARINI DUGGAN, H. and DE ROBERTIS, E., Adrenergic synaptic vesicles in the anterior hypothalamus of the rat, *Anat. Rec.* 145 (1963) 521 - 531.
- 83 PERRI, V., SACCHI, O., RAVIOLA, E. and RAVIOLA, G., Evaluation of the number and distribution of synaptic vesicles at cholinergic nerve-endings after sustained stimulation, *Brain Research* 39 (1972) 526 - 529.
- 84 PETERS, A., PALAY, S.L. and WEBSTER, H. DE F., The fine structure of the nervous system. The cells and their processes, Hoeber Medical Division, Harper and Row (Publishers), New York, Evanston and London, 1970, 146 - 151.

- 85 PETERSON, R.P. and KERNELL, D., Effects of nerve stimulation on the metabolism of ribonucleic acid in a molluscan giant neurone, *J. Neurochem.* 17 (1970) 1075 - 1085.
- 86 PORTER, K.P., The endoplasmic reticulum: Some current interpretations of its forms and functions, *Biol. Struct. Funct.* 1 (1961) 127 - 155.
- 87 PRESCOTT, D.M., Nuclear function and nuclear-cytoplasmic interactions, *Ann. Rev. Physiol.* 22 (1960) 17 - 44.
- 88 PRIVES, C. and QUASTEL, J.H., Effect of cerebral stimulation on biosynthesis of nucleotides and RNA in brain slices in vitro, *Biochim. biophys. Acta* 182 (1969) 285 - 294.
- 89 PYSH, J.J. and WILEY, R.G., Morphological alterations of synapses in electrically stimulated superior cervical ganglia of the cat, *Science* 176 (1972) 191 - 193.
- 90 PYSH, J.J. and WILEY, R.G., Synaptic vesicle depletion and recovery in cat sympathetic ganglia electrically stimulated in vivo. Evidence for transmitter secretion by exocytosis, *J. Cell Biol.* 60 (1974) 365 - 374.
- 91 QUILLIAM, J.P. and TAMARIND, D.L., Some effects of preganglionic nerve stimulation on synaptic vesicle populations in the rat superior cervical ganglion, *J. Physiol. (Lond.)* 235 (1973) 317 - 331.
- 92 RASMUSSEN, G.L., Efferent fibers of the cochlear nerve and cochlear nucleus. In RASMUSSEN, G.L. and WINDLE, W. (Eds.), *Neural mechanisms of the auditory and vestibular systems*, Thomas, Springfield, Illinois, USA, 1960, 105 - 115.
- 93 RASMUSSEN, G.L., Efferent connections to the cochlear nucleus. In GRAHAM, A.B. (Ed.), *Sensorineural hearing processes and disorders*, Little, Brown and Co., Boston, 1967, 61 - 75.
- 94 REESE, T.S., Fine structure of nerve endings in the ventral cochlear nucleus of normal and experimental animals, *Anat. Rec.* 154 (1966) 408 - 409.
- 95 ROSE, J.E., GALAMBOS, R. and HUGHES, J.R., Microelectrode studies of the cochlear nuclei of the cat, *Bull. Johns Hopk. Hosp.* 104 (1959) 211 - 251.
- 96 SHASHOUA, V.E., Dibutyryl adenosine cyclic 3':5'-monophos-

- phate effects on goldfish behavior and brain RNA metabolism, Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 68 (1971) 2835 - 2838.
- 97 SHASHOUA, V.E., RNA metabolism in the brain, Int. Rev. Neurobiol. 16 (1974) 183 - 228.
- 98 SOTELO, C. and PALAY, S.L., The fine structure of the lateral vestibular nucleus in the rat. I. Neurons and neuroglial cells, J. Cell Biol. 36 (1968) 151 - 179.
- 99 STÄMPFLI, R., Allgemeine Erregungsphysiologie der Nervenzellmembran. In GAUER, O.H., KRAMER, K. und JUNG, R. (Hrsg.), Physiologie des Menschen, Band 10 (Allgemeine Neurophysiologie), Urban und Schwarzenberg, München, Berlin, Wien, 1974, 55.
- 100 STÖCKER, E., Autoradiographische Untersuchungen zur Deutung der funktionellen Kernschwellung am exokrinen Pankreas, Z. Zellforsch. 57 (1962) 47 - 62.
- 101 STÖCKER, E., Autoradiographische Untersuchungen zur Ribonukleinsäure- und Eiweißsynthese im nuklearen Funktionsformwechsel der exokrinen Pankreaszelle, Z. Zellforsch. 57 (1962) 145 - 171.
- 102 TAKAGI, M., TANAKA, T. and OGATA, K., Functional differences in protein synthesis between free and bound polysomes of rat liver, Biochim. biophys. Acta 217 (1970) 148 - 158.
- 103 TREUX, R.C. and CARPENTER, M.B., Human neuroanatomy, The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1969, 341 - 345.
- 104 UCHIZONO, K., Characteristics of excitatory and inhibitory synapses in the central nervous system of the cat, Nature (Lond.) 207 (1965) 642 - 643.
- 105 WALBERG, F., Elongated vesicles in terminal boutons of the central nervous system, a result of aldehyde fixation, Acta anat. (Basel) 65 (1966) 224 - 235.
- 106 WATSON, M.L., The nuclear envelope (its structure and relation to cytoplasmic membranes), J. biophys. biochem. Cytol. 1 (1955) 257 - 270.
- 107 WEIBEL, E.R., KISTLER, G.S. and SCHERLE, W.F., Practical stereologic methods for morphometric cytology, J. Cell Biol. 30 (1966) 23 - 38.

- 108 WENZEL, J., DAVID, H., POHLE, W., MARX, I. and MATTHIES, H., Free and membrane-bound ribosomes and polysomes in hippocampal neurons during a learning experiment, *Brain Research* 84 (1975) 99 - 109.
- 109 WINKELMANN, E., DAVID, E., MARX, I. und DAVID, H., Ultrastrukturelle Untersuchungen zu Veränderungen der synaptischen Struktur und des Perikaryons im Zentralnervensystem des Meerschweinchens (*Cavia porcellus* L.) unter Sauerstoffmangel, *Z. mikr.-anat. Forsch.* 86 (1972) 157 - 176.
- 110 WÜSTENFELD, E., Experimentelle Untersuchungen zum Problem der Schallanalyse im Innenohr, *Z. mikr.-anat. Forsch.* 63 (1958) 327 - 387.
- 111 WÜSTENFELD, E. und BÜMMERSTEDE, D. (unveröffentlicht); vgl. BÜMMERSTEDE, D., Beeinflussung der Kerngröße von Ganglienzellen in der Oliva superior durch Reintonbeschallung (Meerschweinchen), Inaug.-Diss. Würzburg 1973.
- 112 WÜSTENFELD, E. und FINCK, R. (unveröffentlicht); vgl. FINCK, R., Karyometrische Untersuchungen am medullären Akustikuskomplex nach Reintonbeschallung mit verschiedenen Frequenzen und Intensitäten (Meerschweinchen), Inaug.-Diss. Würzburg 1973.
- 113 WÜSTENFELD, E. und GALL, H. (unveröffentlicht); vgl. GALL, H., Über die Beeinflussung der Kerngröße von Ganglienzellen des Colliculus inferior durch Reintonbeschallung (Meerschweinchen), Inaug.-Diss. Würzburg 1970.
- 114 WÜSTENFELD, E. und GLEISS, H., Das medulläre Akustikusgebiet und seine Reaktion auf Reintonbeschallung (Meerschweinchen), *Anat. Anz.* 125 (1969, Erg.-Heft) 447 - 459.
- 115 WÜSTENFELD, E. und HALBFAS, E., Über die Beeinflussung der Kerngröße im Ganglion spirale cochleae durch Reintonbeschallung, *Z. Zellforsch.* 67 (1965) 271 - 278.
- 116 WÜSTENFELD, E., KALLENBACH, G. und KALLENBACH, H., Über die Beeinflussung von Kerngröße und Nissl-Substanz in den Ganglienzellen des medullären Acusticuskomplexes nach Reintonbeschallung (Meerschweinchen), *Z. Anat. Entwickl.-Gesch.* 131 (1970) 353 - 363.
- 117 WÜSTENFELD, E. und SCHWAB, G. (unveröffentlicht); vgl. SCHWAB, G., Veränderungen an den Ganglienzellkernen des

Colliculus inferior nach Reintonbeschallung (Meerschweinchen),
Inaug.-Diss. Würzburg 1970.

- 118 WÜSTENFELD, E. und SPRENGER, F.H., Variationsstatistische Untersuchungen an den Sinneszellkernen des Cortischen Organs von Meerschweinchen, Z. Zellforsch. 48 (1958) 720 - 734.

LEBENS LAUF

Petra KÖPF-MAIER,

geboren am 25. Juli 1952 in Hof/Bayern

Vater: Hermann Maier, Studiendirektor a.D.

Mutter: Liselotte Maier, geb. Schwab

1958 - 1962	Besuch der Volksschule in Hof
1962 - 1971	Besuch des Städtischen Mädchengymnasiums in Hof
Juni 1971	Reifeprüfung am Städtischen Mädchengymnasium in Hof, Bewilligung des Bayerischen Staatsstipendiums für besonders Begabte aufgrund des Ergebnisses der Reifeprüfung
Oktober 1971 - - März 1973	Studium der Humanmedizin an der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg
Oktober 1972	Naturwissenschaftliche Vorprüfung in Würzburg (sehr gut)
ab April 1973	Studium der Humanmedizin an der Freien Universität Berlin
September 1973	Ärztliche Vorprüfung in Berlin (sehr gut)
März 1975	Ablegung des Ersten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung mit der höchsten Punktzahl von Berlin
August 1976	Ablegung des Zweiten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung mit der höchsten Punktzahl von Berlin
Oktober 1976 - - September 1977	Ausbildung im Praktischen Jahr am Rudolf-Virchow-Krankenhaus sowie am Klinikum Steglitz in Berlin
Oktober 1977	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung in Berlin
28. Oktober 1977	Approbation als Ärztin

